



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE IN VIVO DEL
COMPONENTE FLAVÓNICO DE *Scoparia dulcis* L.”**

TESIS DE GRADO

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

MARTHA CECILIA NARANJO CHILUISA

RIOBAMBA- ECUADOR

2014

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, por ser mi guía, mi protección y fuente de sabiduría, en cada paso que doy.

A mis padres, Erlinda y Humberto que depositaron toda su confianza en mí y apoyaron sobre todo en los momentos más difíciles de mi vida estudiantil. Especialmente a mi madre por brindarme su inmenso amor, sus consejos, su protección, por ser mi ejemplo de lucha y constancia.

A mis hermanos Javier y Ruth que siempre me han demostrado todo su apoyo y amor.

A mi gran amor Faby que me ha brindado su comprensión, apoyo y amor incondicional durante todo este tiempo.

A la luz de mi vida y mi mayor tesoro Noíta, que es mi inspiración para seguir adelante y ser un ejemplo en su camino.

AGRADECIMIENTO

Mi mayor agradecimiento a Dios, por todas las bendiciones que derrama sobre mí.

A mis padres por todo el apoyo, amor y valores que me han inculcado.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por contribuir en mi formación profesional.

A mis profesores por el conocimiento impartido, en las aulas de clases durante estos años, especialmente al Dr. Carlos Espinoza tutor de tesis y a la Dra. Elizabeth Escudero colaboradora de la misma, por su valioso apoyo en la realización de este trabajo.

A Luis un gran compañero y amigo por la ayuda que me ha brindado en la parte experimental de este estudio.

A mis grandes amigas, por todos los momentos buenos y malos que atravesamos juntas durante estos años.

A mi esposo e hija que han sido un pilar importante en la realización de este trabajo.

A mi familia política que de una u otra manera siempre me han apoyado para poder culminar este proceso.

Gracias por siempre.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE IN VIVO DEL COMPONENTE FLAVÓNICO DE *Scoparia dulcis* L”**, de responsabilidad del señorita egresada Martha Cecilia Naranjo Chiluisa, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Cesar Ávalos
**DECANO FAC. DE
CIENCIAS**

Dra. Ana Albuja
**DIRECTORA ESCUELA
BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

Dr. Carlos Espinoza
DIRECTOR DE TESIS

Dra. Elizabeth Escudero
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Jacinto Mera
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

**DIRECTOR CENTRO DE
DOCUMENTACION**

NOTA DE TESIS

Yo, Martha Cecilia Naranjo Chiluisa, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO.

MARTHA CECILIA NARANJO CHILUISA.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

DM	Diabetes Mellitus
DMNID	Diabetes Mellitus no Insulino Dependiente
DMID	Diabetes Mellitus Insulino Dependiente
ONU	Organización de las Naciones Unidas
OMS	Organización Mundial de la Salud
ADA	Asociación Americana de Diabetes
FID	Federación Internacional de Diabetes
MSP	Ministerio de Salud Pública
INEC	Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
CDR	Cantidades Diarias Recomendadas
ATP	Adenosín Trifosfato
SUR	Receptores para Sulfonilureas
STZ	Estreptozotocina
MAO	Monoaminoxidasa
ANOVA	Análisis de Varianzas
HSD	Diferencia Estadísticamente Honesta
°C	Grados Celsius
Rf	Factor de Retención
Hb_{A1c}	Hemoglobina Glicosilada
Kg	Kilogramos
G	Gramos
ml	Mililitros
Mg	Miligramos

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1	MARCO TEÓRICO	1
1.1	DIABETES MELLITUS	1
1.1.1	CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES	1
1.1.2	EPIDEMIOLOGÍA	4
1.1.3	CAUSAS	5
1.1.4	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	6
1.1.5	COMPLICACIONES DE LA DIABETES	6
1.1.6	FACTORES DE RIESGO PARA DIABETES MELLITUS TIPO 2	7
1.1.7	DIAGNÓSTICO	8
1.1.8	TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES.	8
1.1.9	TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	10
1.1.10	ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	16
1.1.11	BIOMODELOS DE INDUCCIÓN A LA HIPERGLUCEMIA	17
1.1.12	TEATINA (<i>Scoparia dulcis</i> L).	19
2	PARTE EXPERIMENTAL	22
2.1	LUGAR DE INVESTIGACIÓN	22
2.2	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.	23
2.2.1	MATERIA PRIMA	23
2.2.2	MATERIAL BIOLÓGICO	23
2.2.3	MATERIALES DE LABORATORIO	24
2.3	TÉCNICAS Y MÉTODOS	26
2.3.1	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS	26

2.3.2	CONTROL DE CALIDAD DEL VEGETAL-----	27
2.3.3	TAMIZAJE FITOQUÍMICO -----	31
2.3.4	CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EXPRESADOS COMO QUERCETINA.----	36
2.3.5	ENSAYO DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE-----	37
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	42
3.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA-----	42
3.1.1	CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ALCÓHOLICO DE <i>Scoparia dulcis</i> L ---	43
3.1.2	DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO- QUÍMICOS. -----	44
3.2	TAMIZAJE FITOQUIMICO -----	44
3.3	ESTUDIO CROMATOGRÁFICO-----	49
3.4	CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE QUERCETINA. -----	50
3.5	ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE -----	52
3.5.1	RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DE LOS TRATAMIENTOS.-----	53
3.6	ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS RATAS-----	66
4	CONCLUSIONES-----	70
5	RECOMENDACIONES -----	72
6	BIBLIOGRAFÍA -----	73
7	ANEXOS -----	79

ÍNDICES DE CUADROS

CUADRO No 1: Clasificación de las sulfonilureas.....	11
CUADRO No 2: Clasificación científica de (<i>Scoparia dulcis</i> L).....	19
CUADRO No 3: Taxonomía de las ratas.	23
CUADRO No 4: Materiales de Laboratorio, Equipos y Reactivos.	24
CUADRO No 5: Control de calidad de la materia prima.	42
CUADRO No 6: Control de calidad del Subextracto alcohólico de <i>Scoparia dulcis</i> L. ..	43
CUADRO No 7: Resultado del tamizaje fitoquímico del extracto Hexánico de <i>Scoparia dulcis</i> L. Julio 2014.....	45
CUADRO No 8: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto Etéreo de <i>Scoparia dulcis</i> L. Julio 2014.....	45
CUADRO No 9: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto de acetato de etilo de <i>Scoparia dulcis</i> L. Julio 2014.....	46
CUADRO No 10: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto de la mezcla €18 (Acetato de etilo + Etanol) de <i>Scoparia dulcis</i> L. Julio 2014.	46
CUADRO No 11: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto de la mezcla €14 (Acetato de Etilo + Etanol) de <i>Scoparia dulcis</i> L. Julio 2014.....	47
CUADRO No 12: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto alcohólico de <i>Scoparia dulcis</i> L. Julio 2014.....	47
CUADRO No 13: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto Acuoso de <i>Scoparia dulcis</i> L. Julio 2014.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No 1: Esquema de pipeteo para la determinación de glucosa.	39
TABLA No 2: Grupos de tratamientos de experimentación.	40
TABLA No 3: Determinación de los parámetros físico- químicos.	44
TABLA No 4: Resultado cromatográfico del estándar de quercetina y el subextracto alcohólico de <i>Scoparia dulcis L.</i>	49
TABLA No 5: Cuantificación de flavonoides expresados en % de quercetina.	51
TABLA No 6: Grupos de tratamientos	52
TABLA No 7: Análisis estadístico de la actividad hipoglicemiante del Subextracto alcohólico de <i>Scoparia dulcis L.</i> , para glicemia basal. Laboratorio análisis bacteriológicos y clínicos. Septiembre 2014.....	53
TABLA No 8: Anova de un factor datos agrupados para glucosa basal de los diferentes tratamientos.	54
TABLA No 9: Análisis estadístico de la actividad hipoglicemiante del subextracto alcohólico de <i>Scoparia dulcis L.</i> , para glicemia a los 30 minutos. Laboratorio análisis bacteriológicos y clínicos. Septiembre 2014.	55
TABLA No 10: Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 30 minutos, de los diferentes tratamientos.	57
TABLA No 11: Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glicemia a los 30 minutos, de los diferentes tratamientos.	57
TABLA No 12: Análisis estadístico de la actividad hipoglicemiante del subextracto alcohólico de <i>Scoparia dulcis L.</i> , para glicemia a los 60 minutos. Laboratorio análisis bacteriológicos y clínicos. Septiembre 2014.	59
TABLA No 13: Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 60 minutos, de los diferentes tratamientos.	60

TABLA No14: Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glucosa a los 60 minutos, de los diferentes tratamientos.	61
TABLA No15: Análisis estadístico de la actividad hipoglicemiente del subextracto alcohólico de <i>Scoparia dulcis</i> L, para glicemia a los 120 minutos. Laboratorio análisis bacteriológicos y clínicos. Septiembre 2014.	62
TABLA No 16: Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 60 minutos, de los diferentes tratamientos.	64
TABLA No 17: Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glucosa a los 120 minutos, de los diferentes tratamientos.	64
TABLA No 18: Estudio histopatológico de los principales órganos de Ratas	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No 1: Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa basal de los diferentes tratamientos.	54
GRÁFICO No 2: Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 30 minutos de los diferentes tratamientos.	56
GRÁFICO No 3: Gráfica de los niveles de glicemia a los 30 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el C-.	58
GRÁFICO No 4: Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 60 minutos de los diferentes tratamientos.	60
GRÁFICO No 5: Gráfica de los niveles de glicemia a los 60 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el C-.	62
GRÁFICO No 6: Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 120 minutos, de los diferentes tratamientos	63
GRÁFICO No 7: Gráfica de los niveles de glicemia a los 120 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el C-.	65
GRÁFICO No 8: Gráfica de actividad hipoglicemiante del extracto etanólico de <i>Scoparia dulcis</i> L. Curva de tolerancia a la glucosa.	65

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No 1: Administración de los tratamientos	40
FOTOGRAFÍA No 2: Placa cromatográfica del estándar de Quercetina y subextracto alcohólico <i>Scoparia dulcis</i> L.....	50
FOTOGRAFÍA No 3: Planta de <i>Scoparia dulcis</i> L.	79
FOTOGRAFÍA No 4: <i>Scoparia dulcis</i> L. molida y pesada	79
FOTOGRAFÍA No 5: Obtención de los subextractos de <i>Scoparia dulcis</i> L.	79
FOTOGRAFÍA No 6: Subextractos de <i>Scoparia dulcis</i> L.....	80
FOTOGRAFÍA No 7: Determinación de pH e Índice de refracción del subextracto alcohólico.	80
FOTOGRAFÍA No 8: Determinación de la densidad relativa del subextracto alcohólico.	80
FOTOGRAFÍA 9: Determinación de humedad y cenizas.	81
FOTOGRAFÍA No 10: Planta de <i>Scoparia dulcis</i> L., molida y pesada para determinar humedad y cenizas	81
FOTOGRAFÍA No 11: Lectura de los subextractos en el espectrofotómetro	81
FOTOGRAFÍA No 12: Glibenclamida	82
FOTOGRAFÍA No 13: Glucosa.....	82
FOTOGRAFÍA No 14: Tratamientos de estudio.....	82
FOTOGRAFÍA No 15: Obtención de sangre en capilares.....	83
FOTOGRAFÍA No 16: Administración de los tratamientos.....	83
FOTOGRAFÍA No 17: Centrifugado de las muestras de sangre.	83
FOTOGRAFÍA No 18: Obtención de los sueros.....	84

FOTOGRAFÍA No 19: Pipeteo de las diferentes muestras.	84
FOTOGRAFÍA No 20: Muestras en baño maría.	84
FOTOGRAFÍA No 21: Muestras listas para la determinación de glucosa.	85
FOTOGRAFÍA No 22: Lectura en el espectrofotómetro de las muestras.	85
FOTOGRAFÍA No 23: Tamizaje del extracto Hexánico.	85
FOTOGRAFÍA No 24: Tamizaje del subextracto etéreo.....	86
FOTOGRAFÍA No 25: Tamizaje del subextracto de acetato de etilo.	86
FOTOGRAFÍA No 26: Tamizaje del subextracto C18.....	86
FOTOGRAFÍA No 27: Tamizaje del subextracto C 14.....	87
FOTOGRAFÍA No 28: Tamizaje del subextracto alcohólico.	87
FOTOGRAFÍA No 29: Tamizaje del subextracto acuoso	87
FOTOGRAFÍA No 30: Disección de las ratas.	88
FOTOGRAFÍA No 31: Extracción de los principales órganos.	88
FOTOGRAFÍA No 32: Principales órganos extraídos de los animales de experimentación	88
FOTOGRAFÍA No 33: Medición del diámetro, peso y longitud de los diferentes órganos extraídos	89
FOTOGRAFÍA No 34: Preparación de los órganos para el examen microscópico	89
FOTOGRAFÍA No 35: Órganos fijados en parafina y en tinción Gram para examen microscópico.....	89

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No 1: OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS	79
ANEXO No 2: DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS.	80
ANEXO No 3: DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y CENIZAS.....	81
ANEXO No 4: CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES.....	81
ANEXO No 5: PREPARACION DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS.	82
ANEXO No 7: ADMINISTRACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS.....	83
ANEXO No 8: DETERMINACIÓN DE GLUCOSA.	83
ANEXO No 9: TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS DIFERENTES SUBEXTRACTOS.	85
ANEXO No 10: DISECCIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.	88
ANEXO No 11: ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	88

RESUMEN

Evaluación de la actividad hipoglicemiente in vivo del componente flavónico de *Scoparia dulcis* L, realizada en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH, con la finalidad de buscar nuevas alternativas para el tratamiento de la diabetes.

Para la investigación se utilizó, material biológico (18 ratas machos de 290-310g), los mismos que formaron 6 grupos de 3 ratas: T1 (tratamiento 1 administrado subextracto alcohólico al 40%), T2 (tratamiento 2 administrado subextracto alcohólico al 60%), T3 (tratamiento 3 administrado subextracto alcohólico al 80%), C+ (control positivo, administrado glibenclamida 5mg/kg), C- (control negativo, administrado solución de glucosa 3g/kg) y B (blanco o testigo, al cuál no se administró ninguna solución).

Se evaluaron los niveles de glicemia a los 0, 30, 60 y 120 minutos después de haber administrado todos los tratamientos. Realizada la administración de los tratamientos, después de 30 minutos, se induce a hiperglicemia con sobrecarga de glucosa por vía oral en una relación de 3g/kg. Los niveles de glicemia en sangre se evaluaron después de los tiempos ya mencionados, mediante espectrofotómetro con el método GOD- PAD (Prueba enzimática colorimétrica por glucosa).

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el test ANOVA de un factor con datos agrupados y prueba de TUKEY SHD al 95% de intervalo de confianza. Mostrando una disminución de un 30.21% con el tratamiento 3, en relación al porcentaje del medicamento comercial que reduce en un 19.69%. Por lo cuál se evidencia claramente que el tratamiento 3 a la dosis empleada, muestra actividad hipoglicemiente, incluso mejor que el C+, concluyendo de esta manera que el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, si presenta actividad hipoglicemiente debido a la presencia de (quercetina) un componente flavónico. Posteriormente se realizó toxicidad aguda, la cual mediante estudio histopatológico de los órganos más importantes involucrados en la actividad farmacológica (riñón, hígado, estomago), no revela ningún daño toxico, por lo cual este subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, resulta ser seguro y eficaz para el tratamiento de la diabetes. Se recomienda utilizar este subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, en una forma farmacéutica, con la finalidad de que exista mayores alternativas de tratamiento para los pacientes diabéticos, mejorando así su calidad de vida.

SUMMARY

Evaluation of hypoglycemic activity in vivo component flavonic of *Scoparia dulcis L*, made in the Biotery of the School of Biochemistry and Pharmacy, ESPOCH, in order to seek new alternatives for the treatment of diabetes.

For investigation was used, the biological material (18 male rats 290-310g), the same as formed 6 groups of 3 rats: T1 (treatment 1 alcoholic subextract administered 40%), T2 (treatment 2 alcoholic subextract administered 60%), T3 (treatment 3 alcoholic subextract administered 80%), C + (positive control, glibenclamide administered 5 mg / kg), C (negative control glucose solution administered 3 g / kg) and B (white or witness, which no solution was administered).

Glycemic levels were evaluated at 0, 30, 60 and 120 minutes after administration of all treatments. Once the administration of treatment, after 30 minutes, induces hyperglycemia with glucose load orally in a ratio of 3 g / kg. The levels of glycemic in the blood after the times mentioned above assessed by spectrophotometer with God- PAD method (enzymatic colorimetric test for glucose).

The data obtained were statistically analyzed by the ANOVA test, a factor with grouped data and proof of TUKEY SHD 95% confidence interval. Showing a decrease of 30.21% in treatment 3, on the percentage of commercial drug that reduces by 19.69%. Thus clearly shows that treatment 3 at the dose used, shows hypoglycemic activity, even better than the C +, thus concluding the alcoholic subextract of *Scoparia dulcis L*, has hypoglycemic activity because of the presence of (quercetin) one flavone component. Subsequently acute toxicity, which was made by histopathology of major organs involved in drug activity (kidney, liver, stomach), reveals no toxic damage, so this alcoholic subextract of *Scoparia dulcis L* turns out to be safe and effective for the treatment of diabetes. It is recommended that this alcoholic subextract of *Scoparia dulcis L*, in a dosage form, in order that there are treatment options for elderly diabetic patients, thereby improving their quality of life.

INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad que se presenta cada vez con mayor frecuencia en la población, ocasionando diversas complicaciones agudas y crónicas que incide considerablemente en la calidad de vida del paciente diabético.

“Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que en el mundo hay más de 347 millones de personas con diabetes, de las cuales el 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios. En el 2013, la diabetes causó 5,1 millones de muertes: cada 6 segundos muere una persona debido a la diabetes.

La Federación Internacional de Diabetes (FID) estima que de 382 millones de personas con diabetes, en el 2035, el número aumentará hasta 592 millones. Sin embargo 175 millones de personas no están diagnósticas. De los 382 millones de personas con diabetes, 184 millones pertenecen a mujeres y 198 millones a hombres y la mayoría se encuentra entre 40-59 años de edad.

En Ecuador hay aproximadamente 700.000 personas con diabetes, de esta población el 5% padece de diabetes tipo I (insulinodependientes) y el 95% diabetes tipo II (no - insulinodependientes) y según las estadísticas del INEC 2012, es la primera causa de muerte en el Ecuador.

Según datos recopilados por el INEC 2009 a nivel de la Provincia de Chimborazo hay un promedio de 354 pacientes diabéticos y se ha constituido el cuarto lugar de causa de morbi mortalidad existe un alto índice en el área Urbana con un 39% mientras que en el área rural 7% padecen de diabetes.

Se han realizado diversos estudios en los que se demuestra que el tratamiento a base de fitomedicamentos suplanta de alguna manera al tratamiento médico, ayudando a la solución de este problema, y promoviendo la calidad de vida de las personas que padecen esta enfermedad crónica.

Debido a que los medicamentos sintéticos presentan múltiples efectos colaterales son en general más agresivos y de costo elevado a diferencia de las plantas medicinales que

ejercen efectos más suaves y prolongados sin provocar fuertes agresiones al organismo lo que ocasiona que los pacientes muchas veces desistan del tratamiento y busquen otras alternativas. (BAYÓN, A. 2009). Por esto se ha visto la necesidad de investigar y desarrollar estudios de plantas que ayuden a controlar o disminuir los niveles de glucosa en sangre.

Las plantas constituyen una fuente muy importante de componentes o principios activos que alteran o modifican el funcionamiento de órganos del cuerpo humano. Se han investigado una gran variedad de principios activos así como la función que cumplen en el sistema humano, siendo los de mayor importancia para la salud, los alcaloides (analgésicos, antitumorales, estimulantes, antitusígenos, antibióticos); flavonoides (antioxidantes, antiinflamatorios, antibacterianos, cardiotónicos); glucósidos (función energética y de reserva); los mucílagos (laxante, gastroprotector, antihipertensivo); taninos (cicatrizante, astringente, antibacteriano, antioxidantes) entre otros.

América latina ha desarrollado un papel muy importante a través de los compuestos y medicinas derivados de plantas originarias de Centro y Suramérica tales como la “Diosgenina empleada como anticonceptiva y la Emetina empleada para combatir las amebas”, y muchos otros compuestos derivados de las plantas que están siendo estudiados para la cura del cáncer y del SIDA entre otras graves enfermedades (VALLEJO, A. 1998)

Las plantas con propiedades medicinales, han sido empleadas en la medicina tradicional, como materia prima en la preparación de un sin número de medicamentos elaborados por la industria farmacéutica y herbal, de modo que su comercialización cada vez va aumentando. “Se aprecia que el mercado mundial de fármacos de origen vegetal se aproxima a unos 35 mil millones de dólares al año”. (VAREA, A. 1997)

Uno de los métodos para preservar la salud del paciente diabético, es mediante el uso de plantas o extractos que ayude que los niveles de glucosa en sangre se mantengan dentro de los valores normales o lo más cercanos posibles. Un adecuado control favorece en la prevención de complicaciones de la diabetes que involucran órganos como el corazón, ojos, riñones y nervios.

En el Ecuador el 80% de la población depende del uso de plantas medicinales y ya que alrededor de 300 plantas y extractos son considerados beneficiosos para los pacientes que

presentan diabetes (**BITRON, J. 1999**), de ahí la importancia de investigar esta planta, la misma que en un estudio realizado en la Universidad de Malasia demostró tener efecto hipoglucemiante, debido a que posee componentes flavónicos que le dan la actividad farmacológica (**BEH, J y otros. 2013**) pero no ha sido demostrada in vivo, de ahí surge la necesidad de comprobar mediante nuestro estudio si conserva dicha propiedad al ser administrado en animales de experimentación.

En el presente estudio se procederá a inducir a hiperglicemia con sobrecarga de glucosa, se administraran los diferentes tratamientos y se evaluará los niveles de glucosa en sangre mediante espectrofotometría.

Se han realizado diferentes estudios sobre actividad hipoglucemiante de plantas medicinales en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Escuela de Bioquímica y Farmacia: Rosero, M. (2010), Efecto Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de Canela (*Cinnamomum Zeylanicum*), en Ratas (*Rattus Novergicus*) con Hiperglicemia Inducida; Pazmiño, C (2011), “Determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de *Justicia chlorostachya Leonard* (insulina) en ratones con hiperglicemia inducida.”

La teatina (*Scoparia dulcis L*) es una planta nativa a la que se le atribuye algunas propiedades medicinales como: antiespasmódico digestivo, tónico estomacal, antiséptico, expectorante, antiinflamatorio. (**VEGA, M. 2001**) en nuestro país se usa la planta para aliviar dolores, lavar heridas, como anticonceptivo abortivo, para reducir la fiebre, náuseas, para la diabetes e hipertensión. (**SELVA TROPICAL. 2011**)

Los resultados del presente trabajo permitirán un mayor conocimiento del efecto terapéutico de esta planta, ya que en nuestro país no hay estudios que demuestren actividad hipoglicemiante, de manera que contribuirá en el tratamiento del paciente diabético mejorando su calidad de vida, al igual que se generará evidencia científica acerca de la composición química de la especie nativa.

CAPITULO I

1 MARCO TÉORICO

1.1 DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus es una enfermedad que se caracteriza por un desorden en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas, que resulta de la deficiente producción o secreción de insulina. La insulina es una hormona producida por el páncreas que ayuda al transporte de la glucosa al interior de las células. Cuando no hay paso de glucosa hacia las células estas pueden morir, ocasionando daños en los nervios y vasos sanguíneos afectando a los órganos como son los ojos, corazón, riñones y cerebro. (COOKE, D., PLOTNICK, L. 2008)

1.1.1 CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES

La diabetes según la Asociación Americana de Diabetes (ADA) se clasifica en cuatro categorías de pacientes y una quinta categoría o grupo de pacientes que presentan glicemias anormales con tendencia de desarrollar diabetes y mayor riesgo cardiovascular):

1. Diabetes Mellitus tipo 1
2. Diabetes Mellitus tipo 2
3. Otros tipos específicos de Diabetes
4. Diabetes Gestacional
5. Intolerancia a la glucosa y glicemia de ayunas alterada

1.1.1.1 LA DIABETES MELLITUS TIPO 1

Este tipo de diabetes suele aparecer en edades tempranas, antes de los 40 años, es decir en niños y adultos jóvenes, se produce como consecuencia de la destrucción de las células del páncreas que no pueden producir insulina, en estos casos la insulina debe ser administrada desde el exterior mediante inyecciones. (**COOKE, D., PLOTNICK, L.** 2008)

Los síntomas más frecuentes son:

- Abundante sed y sequedad de boca
- Micción frecuente
- Falta de energía, cansancio extremo
- Hambre constante
- Disminución de peso
- Heridas de cicatrización lenta
- Infecciones recurrentes
- Visión borrosa

1.1.1.2 DIABETES MELLITUS TIPO II.

La diabetes tipo II es aquella en el cual el páncreas no produce suficiente cantidad de insulina o a su vez las células no reconocen a la insulina, provocando que la glucosa se acumule en el torrente sanguíneo elevando los niveles de glucosa. La mayoría de pacientes con diabetes tipo II presentan obesidad o una distribución de grasa predominante en la zona abdominal, con fuerte predisposición genética. Las personas que padecen de esta patología responden a dieta e hipoglucemiantes orales, sin embargo con el tiempo recurren a la insulina para su control. (COOKE, D., PLOTNICK, L. 2008)

Factores importantes para el desarrollo de la diabetes tipo 2.

- La obesidad
- La mala alimentación
- La inactividad física
- La edad avanzada
- Los antecedentes familiares de diabetes
- El grupo étnico
- La alta glucosa en sangre durante el embarazo que afecta al feto.

1.1.1.3 OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES:

Llamada también diabetes secundaria es decir que se conoce la causa que la produce entre estas tenemos:

- Defectos genéticos en la funcionalidad de las células beta del páncreas.
- Defectos genéticos de la acción de la insulina.
- Patologías pancreáticas
- Endocrinopatías
- Diabetes provocada por la acción de los fármacos

- Por procesos infecciosos. **(COOKE, D., PLOTNICK, L. 2008)**

1.1.1.4 DIABETES GESTACIONAL:

Es un tipo de diabetes temporal que se desarrolla durante el embarazo y suele desaparecer cuando este termina, se caracteriza por la presencia de hiperglicemia. La diabetes gestacional en mucho de los casos persiste con intolerancia a la glucosa. **(COOKE, D., PLOTNICK, L. 2008)**

La diabetes gestacional suele aparecer a la semana 24, donde el feto ya está formado y sigue creciendo por lo cual el riesgo del bebe no es tan grave como en el caso tener la madre diabetes tipo 1. La condición se produce debido a que la acción de la insulina es bloqueada, probablemente por las hormonas producidas por la placenta, provocando insensibilidad a la insulina (también conocida como resistencia a la insulina).

1.1.1.5 INTOLERANCIA A LA GLUCOSA Y GLICEMIA DE AYUNA ALTERADA:

La Intolerancia a la glucosa o tolerancia anormal a la glucosa (TAG) consiste en administrar por vía oral una sobrecarga de glucosa la misma que tiene una respuesta anormal. Este estado se asocia a mayor prevalencia de patología cardiovascular y a riesgo de desarrollar diabetes clínica (5-15% por año).

Glicemia de ayuno alterada o alteración de glucosa en ayunas (AGA) es una prueba que se realiza después de 8 horas de ayuno y sus valores se encuentran entre 100 y 125 mg/dl. **(COOKE, D., PLOTNICK, L. 2008)**

1.1.2 EPIDEMIOLOGÍA

“La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que esta enfermedad aumentara de los 177 millones de pacientes afectados en la actualidad hasta los 300 millones en el año 2025”. **(GODAY, M y otros. 2005).**

“En el año 2000, se estimó que el número de personas que sufrían de diabetes en el continente americano era de 35 millones, de las cuales 19 millones vivían en América Latina y el Caribe. Las proyecciones indican que en el 2025 este número se incrementará a 64 millones de los cuáles 62% vivirán en América Latina y el Caribe que representa un aproximado de 40 millones”. (GODAY, M y otros. 2005).

“La prevalencia más alta de diabetes registrada se concentra en las regiones del sudeste asiático, Pacífico occidental, Europa, América, países del este del Mediterráneo y África”. (GODAY, M y otros. 2005).

“En Ecuador, la prevalencia de diabetes mellitus tipo II se encuentra entre el 4.1 a 5%. La incidencia/año es de 115.19 casos/100.000 habitantes”. (SANOFL. 2013)

En el 2013, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT-ECU), indica una prevalencia de 3.2% en el área urbana y en el área rural 1.6% y dentro de las subregiones que presentan mayor prevalencia de glucemia mayor a 126 mg/dl, esta quito con un 4.8% y la costa urbana con 3.8%

1.1.3 CAUSAS

Herencia: Existe una predisposición familiar ya que por lo general se ha encontrado que los pacientes que la padecen, tienen antecedentes diabéticos. Es así que cuando uno de los padres tiene la enfermedad el riesgo de padecerla es un 40%, mientras que si los dos la presentan será de un 80%, esto aumentará o disminuirá de acuerdo a las características de vida del paciente. (CRUZ, A. 2002)

Factores ambientales

- **Obesidad:** Es una de los principales causas de esta enfermedad, ya que la encontramos presente hasta en un 90% de los casos. Estudios realizados han demostrado que la diabetes es más común en personas con obesidad, debido a que en ellos la sensibilidad en el músculo e hígado a la insulina esta disminuida. (CRUZ, A. 2002)
- **Edad:** es un factor que minimiza la capacidad de tolerar la glucosa. (CRUZ, A. 2002)

- **Exceso de alimentos:** Cuando la población consume una gran cantidad de alimentos ricos en carbohidratos, grasas etc. que engordan es lógico que los índices de diabéticos aumentan. (CRUZ, A. 2002)
- **Stress:** el stress provoca liberación de distintas hormonas como: glucagón, catecolaminas, glucocorticoides y hormona de crecimiento, lo que conlleva a la secreción de ácidos grasos, los mismos que cuales participan en la respuesta de los tejidos a la insulina circulante. (CRUZ, A. 2002)
- **“Infecciones virales:** principalmente los virus de la parotiditis, rubeola, c y el virus de la encefalocarditis”. (CRUZ, A. 2002)
- **Medicamentos que disminuyen la tolerancia a la glucosa:** existen medicamentos que minimizan o reducen la tolerancia a la glucosa entre los más importantes se menciona: “glucocorticoides, diuréticos, fenitoínas, anticonceptivos orales, ácido nicotínico, fenotiacinas, aspirina, agentes citotóxicos etc.”. (CRUZ, A. 2002)

1.1.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

1. Síntomas cardinales: poliuria (exceso del volumen de orina), polifagia (exceso de apetito), polidipsia (exceso de sed), pérdida de peso.
2. Síntomas generales: entre estos están prurito, infecciones cutáneas, demora en la cicatrización de las heridas, somnolencia. (VIZCAÑO, J. 2004).

1.1.5 COMPLICACIONES DE LA DIABETES

La diabetes tiene importantes complicaciones, según Brunner, L. (1989), las mismas pueden ser:

Complicaciones agudas.

1-Coma diabético, causado por el aumento de los niveles de azúcar en la sangre aumentando la osmolaridad de la misma, lo que ocasiona la deshidratación y el coma, pero sin cetoacidosis. (LUZMAR, A y otros. 2006)

2- Puede causar hipoglucemia es decir niveles inferiores de azúcar en la sangre como resultado de una deficiente ingesta alimentaria, practica de fuertes actividades físicas o por exceso de insulina. **(LUZMAR, A y otros. 2006)**

3- Por insuficiente secreción de insulina ocasionando cetoacidosis diabética que es el resultado del incumplimiento de la dosis de insulina, mal dosificación o resistencia de la misma a la propia hormona. **(LUZMAR, A y otros. 2006)**

Complicaciones crónicas

Retinopatía Diabética.- Es la afección o daño de los vasos capilares de la retina, que puede conducir a la pérdida de la visión.

Nefropatía Diabética.- Es el aumento de la presión de los vasos sanguíneos renales, ocasionando un gran esfuerzo al mecanismo de filtración renal

Neuropatía diabética.- Afección de los nervios periféricos especialmente motores, sensoriales y autónomos que afectan las neuronas. **(LUZMAR, A y otros. 2006)**

Pie diabético.- Complicación muy común en los pacientes diabéticos, sus síntomas son excesivo frio, enrojecimiento dolor, adormecimiento y las heridas producidas en los pies tardan en cicatrizar. **(LUZMAR, A y otros. 2006)**

1.1.6 FACTORES DE RIESGO PARA DIABETES MELLITUS TIPO 2

1. Edad mayor o igual a 45 años.

2. Obesidad.- mayor del 20% del peso adecuado e índice de masa corporal que sobrepase de 27 kg/m².

3.” Antecedentes familiares de diabetes en pacientes en primer grado: padres, hijos”. **(VIZCAÑO, J. 2004).**

4. “Antecedentes de diabetes gestacional, tolerancia alterada a la glucosa o glucemia basal alterada”. **(VIZCAÑO, J. 2004).**

5. Hipertensión arterial.

6. Dislipemia: “HDL-colesterol igual o mayor de 35 mg/dl o un nivel de triglicéridos igual o mayor de 250 mg/dl”. (**VIZCAÑO, J.** 2004).

7. “Presencia de posibles complicaciones asociadas a la DM: retinopatía, proteinuria, paresia o parálisis ocular, enfermedad cardiovascular, etc. diagnóstico previo de tolerancia anormal a la glucosa o de glucemia basal alterada”. (**VIZCAÑO, J.** 2004).

1.1.7 DIAGNÓSTICO

La organización Mundial de la Salud (OMS) estableció los siguientes criterios en 1999, para establecer con precisión la enfermedad:

1) “Síntomas clásicos de la enfermedad: poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso inexplicable y una evaluación casual o al azar de glucosa con cifras mayores o iguales de 200mg/dl (11.1mmol/L)”. (**RAMOS, F y otros.** 2008)

2.- “Glucemia plasmática basal mayor o igual a 126 mg/dl. La glucemia plasmática basal se define como aquella que se realiza con ausencia de ingesta calórica de al menos ocho horas”. (**RAMOS, F y otros.** 2008)

3.- “Resultado del test de tolerancia oral de glucosa con 75 g de glucosa mayor o igual a 200 mg/dl. El test debe realizarse según describe la Organización Mundial de la Salud, utilizando 75 g de glucosa disueltos en 400 ml de agua”. (**RAMOS, F y otros.** 2008)

1.1.8 TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES.

DIETA- La dieta es un factor muy importante en el tratamiento y control de la diabetes, llegando en mucho de los casos a ser la única terapia para combatir esta enfermedad. Sin embargo, muchos pacientes no consiguen la adherencia al régimen alimenticio, este a su vez debe establecerse de manera individualizada de acuerdo con el estilo de vida del paciente y los objetivos del tratamiento, para lo cual se debe tomar en cuenta factores socio-económicos y estilo de vida del paciente.

Aproximadamente, el 80% de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) presentan sobrepeso, y una disminución en el peso, puede mejorar la glucemia, la presión arterial y el perfil lipídico del paciente:

Recomendaciones nutricionales.- Recomendaciones establecidas en los Consensos europeos de tratamiento de la DM y las establecidas por la Asociación Americana de Diabetes.

Proteínas: Las Cantidades Diarias Recomendadas (CDR) para las proteínas son de 0.8 g/kg peso/día.

Lípidos: Se debe disminuir la ingesta de lípidos para evitar complicaciones del sistema cardiovascular ya que están íntimamente relacionados con la diabetes. Valor recomendado de colesterol de 200-300 mg/día.

Hidratos de Carbono: constituyen el (60-70%) de la dieta.

Sal: Su ingesta máxima deber ser de 3 g/día, en los sujetos con hipertensión, y 6 g/día en los normotensos.

Fibra: El consumo de fibra ha demostrado tener un efecto hipoglucemiante, reduce los niveles de LDL y VLDL colesterol.

Ejercicio

Se recomienda realizar al menos 150 min/semana de actividad física moderada ya que mejora los niveles de glicemia, minimiza la hemoglobina glicosilada (HbA1c), disminuye problemas cardiovasculares, disminuye el peso, proporciona un buen perfil lipídico y disminuye tensión arterial. (MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA, 2012).

Abandono del cigarrillo

El consumo del tabaco provoca en las personas mayor riesgo de padecer enfermedad vascular cerebral, coronaria y periférica. (MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA, 2012).

Abandono del consumo de alcohol

El consumo de alcohol en las personas diabéticas provoca hipoglucemia. **(MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA, 2012).**

1.1.9 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

En pacientes en los cuales un control o tratamiento dietético fusionado con actividad física y educación sobre la enfermedad no ha proporcionado una respuesta positiva en los niveles de glucemia, debe tratarse con fármacos. **(SMITH, L. 1988).**

Sin embargo hay que tomar en cuenta que un tratamiento a base de hipoglucemiantes orales es eficaz cuando las células beta del páncreas mantienen la capacidad de secretar la insulina.

1.1.9.1 CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS

Los hipoglucemiantes orales se clasifican en cuatro familias:

- Sulfonilureas
- Biguanidas
- Inhibidores de las α - glucosidasas
- Tiazolidinedionas

1.1.9.1.1 SULFONILUREAS:

Las sulfonilureas son fármacos que están subdivididos según el tiempo de vida media ($V_{1/2}$)³ en tres grupos los cuales se presentan en el cuadro 1. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

Clasificación de las sulfonilureas:

CUADRO No 1: Clasificación de las sulfonilureas.

De Duración Corta
Glibenclamida Tolbutamida Glipizida Gliquidona Gliciclamida
De Duración intermedia
Glicazida Acetohexamida Glibormurida
De duración prolongada
Cloropropamida

FUENTE: CHAVES y otros, 2001

Presentan un efecto hipoglucemiante agudo mediante dos efectos: pancreáticos que aumentan la secreción de insulina. El mecanismo de acción se produce en las células beta del páncreas sobre un canal de potasio ATP dependiente que tiene receptores llamados SUR que son receptores para sulfonilureas, las drogas se unen a ese receptor con gran afinidad y producen la inhibición del flujo de potasio del intra al extracelular con lo cual al acumularse potasio intracelular sabemos que se produce despolarización de la membrana con el consiguiente ingreso del Ca^{++} extracelular provocando la liberación de la insulina de los gránulos secretorios hacia el torrente sanguíneo. Por otro lado está el efecto extrapancreático cuyo mecanismo es a nivel hepático mediante la disminución de la salida de glucosa y el aumento del consumo a nivel periférico. (CHAVES, R y otros. 2001).

Se administra por vía oral. Se recomienda administrar el fármaco media hora antes de las comidas ya que se altera con la presencia de los alimentos en el tubo digestivo excepto glimepirida. Las sulfonilureas se unen a las proteínas plasmáticas en un (70-99 %), fundamentalmente la albúmina. El metabolismo es principalmente hepático,

excepto la cloropropamida que se metaboliza escasamente (menor al 1%); la excreción es principalmente renal, excepto la gliquidona que se elimina por vía biliar (**CHAVES, R y otros. 2001**).

Los efectos adversos que presentan estos fármacos son escasos, siendo el más severo es la hipoglucemia, que se presenta con mayor disposición en las personas de tercera edad, pacientes con insuficiencia renal o hepática o en aquellos tratados con cloropropamida. Las sulfonilureas pueden producir además trastornos gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarreas), reacciones hematológicas (agranulocitosis, anemia aplásica, aplasia medular, anemia hemolítica y púrpura trombocitopénica), trastornos hepáticos, efectos teratogénicos. (**CHAVES, R y otros. 2001**).

Sulfonilureas está contraindicado en pacientes con diabetes tipo I, coma diabético, en pacientes con infecciones graves, acidosis cirugías mayores, embarazo, lactancia, insuficiencia renal, insuficiencia hepática (**CHAVES, R y otros. 2001**).

1.1.9.1.2 BIGUANIDAS

Dentro de esta familia de fármacos, se encuentra metformina. Su mecanismo de acción es mediante la inhibición de la gluconeogénesis hepática y el incremento de la glucólisis anaeróbica y la disminución de la absorción intestinal de glucosa. (**CHAVES, R y otros. 2001**).

Se administra por vía oral, su vida media es de 1.3 a 4.5 horas. La metformina es absorbida en el intestino delgado, no se une a proteínas plasmáticas y se excreta sin modificación por la orina. (**CHAVES, R y otros. 2001**).

Los efectos adversos más frecuentes son problemas gastrointestinales los cuales incluyen diarreas, náuseas, vómitos, anorexia y sabor metálico; siendo la acidosis láctica la de mayor riesgo. (**CHAVES, R y otros. 2001**).

Presenta interacciones con la cimetidina y el alcohol. En el caso de la cimetidina provoca una competencia con la excreción renal, por consiguiente aumenta la

concentración de metformina en este caso debe ajustarse la dosis. En el caso de del alcohol aumenta el efecto hiperlactacidémico.

Esta indicado el uso de estos fármacos para pacientes con DMNID y obesidad. El tratamiento se lo puede utilizar en combinación con sulfonilureas o insulina. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

Presenta contraindicaciones similares a las de las sulfonilureas, con la diferencia que se aumentan enfermedad cardiovascular grave, ulcera G-D, deficiencia de Vit.B 12, hierro y ácido fólico. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

1.1.9.1.3 INHIBIDORES DE LA A - GLUCOSIDASAS:

Este grupo de fármacos actúan bloqueando las enzimas a - glucosidasas que son las encargadas de digerir los hidratos de carbono, esta acción provoca una disminución de la glucosa en la sangre durante el día pero principalmente después de la comida. Su tratamiento será más efectivo al combinarla con una dieta rica en fibras y reducido en sacarosa y glucosa. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

Como efectos adversos los más comunes son: problemas estomacales, mal absorción, gases, diarrea, meteorismo. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

Los inhibidores de la α – glucosidasas están contraindicados en enfermedades intestinales, cirrosis hepática, lactancia, embarazo, problemas de insuficiencia renal que presenten valores de creatinina mayores a 2 mg/dl. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

Esta indicado en pacientes con diabetes mellitus no insulino dependientes que presenten niveles de glucemia basales de 140-180 mg/dl y glucemias postprandiales superiores a 180-250 mg/dl. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

1.1.9.1.4 TIAZOLIDINEDIONAS

Dentro de este grupo se encuentran la pioglitazona y la ciglitazona. (Chaves y col, 2001). Estos fármacos actúan mediante la unión al subtipo γ del receptor nuclear de proliferación activado por peroxisomas (PPAR γ), ocasionando una mayor

transcripción de genes de las enzimas que generalmente son estimuladas por la insulina, acción que se produce principalmente en el tejido muscular y graso, lo que con lleva a un aumento de la utilización periférica de glucosa. Otro mecanismo de acción es mediante la inhibición de la gluconeogénesis hepática. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

Se administra por vía oral, transitan unidas a proteínas en su mayoría (99%) a la albúmina plasmática y se metabolizan mediante conjugación en sulfoconjugados, ácido glucurónico y quinonas. Es excretado principalmente por vía biliar. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

Sus principales efectos colaterales son: problemas gastrointestinales, reducción mínima de los valores de hemoglobina, cardiomegalia sin hipertrofia del ventrículo izquierdo.

Esta indicado principalmente en pacientes con Diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID) con predominio de resistencia a la insulina, sobre todo cuando hay intolerancia o contraindicación en el uso de metformina. **(CHAVES, R y otros. 2001).**

1.1.9.2 GLIBENCLAMIDA

La glibenclamida es un fármaco con actividad hipoglucemiante, perteneciente al grupo de las sulfonilureas, cuya función es la de disminuir los niveles de glucosa en sangre, mediante la liberación de insulina por acción de las células beta del tejido pancreático.

1.1.9.2.1 MECANISMO DE ACCIÓN

El mecanismo de acción por el cual actúa la glibenclamida es mediante la intervención del cierre de los canales de potasio dependientes de ATP de la célula beta pancreática. Así, el equilibrio de la salida de potasio causa la despolarización de la membrana y la consiguiente activación de los canales de calcio tipo L, de manera que el aumento de los niveles intracelulares de calcio provoca un estímulo en la secreción de insulina. A nivel extrapancreático la glibenclamida reduce la producción hepática de glucosa y

potencia la acción de la insulina en los tejidos periféricos, fundamentalmente en tejido adiposo y muscular.

Asimismo, presenta una acción diurética leve y aumenta el aclaramiento hídrico.

1.1.9.2.2 FARMACOCINÉTICA

Las principales características farmacocinéticas son:

Biodisponibilidad oral: 90%

Unión a las proteínas séricas: 99%

Vida media: 10 horas

Metabolismo: Hepático

Eliminación: RENAL (25%)

DIGES. (75%)

Duración del efecto: 10-24 h

1.1.9.2.3 CONTRAINDICACIONES

Hipersensibilidad al fármaco, diabetes tipo I (dependiente de insulina), cetoacidosis diabética con o sin coma, estados hipoglucémicos, insuficiencia renal y/o hepática grave, embarazo y lactancia.

1.1.9.2.4 DOSIS

La dosis de inicio de glibenclamida es de 2.5 mg/día, administrados 30 minutos antes de los alimentos. Si la dosis empleada no logra tener efecto hipoglicemiante esta debe aumentarse en forma progresiva a 5mg o hasta 15 mg diarios. La dosis máxima recomendada es de 15mg/día. Sin embargo dosis superiores a 10mg/día, se recomienda administrarse en dos tomas.

1.1.9.2.5 INTERACCIONES

Sustancias que pueden potenciar la acción hipoglucemiante: fenilbutazona, azapropazón y oxifenbutazona, sulfinpirazona, metformina, insulina, salicilatos, esteroides anabolizantes y hormonas masculinas, cloranfenicol, tetraciclinas, quinolonas, anticoagulantes cumarínicos, fenfluramina, feniramidol, fibratos, inhibidores de la ECA, fluoxetina, betabloqueantes y guanetidina, ciclofosfamida, sulfonamidas de acción prolongada, inhibidores de la MAO, probenecid, miconazol y fluconazol, pentoxifilina y claritromicina.

Sustancias que pueden disminuir la acción hipoglucemiante: estrógenos y progestágenos, diuréticos tiazídicos, glucocorticoides, derivados de la fenotiazina, clorpromazina, adrenalina y simpaticomiméticos, ácido nicotínico y sus derivados, laxantes (uso prolongado), fenitoína, glucagón, barbitúricos, rifampicina, acetazolamida, diazóxido y hormonas tiroideas.

1.1.10 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los animales de experimentación son una base fundamental para la investigación científica, se los viene utilizando desde los inicios de la biología como reactivos biológicos con el fin de establecer y dar validación a los estudios científicos.

Los animales de laboratorio son seres vivos con independencia de su categoría filogenética o taxonómica utilizados para fines científicos. El objeto de la ciencia del animal de laboratorio es obtener animales con alta pureza, ser genéticamente similares en base a características fisiológicas y anatómicas.

1.1.10.1 RATAS DE LABORATORIO



IMAGEN No 1: Ratas (*Rattus norvegicus*)

FUENTE: HUGUÉS, B y otros. 2002.

Ratas Wistar pertenecen a la especie *Rattus norvegicus*, son una cepa de ratas albinas. Fueron desarrolladas en el año de 1906 en el Instituto Wistar con la finalidad de utilizarlas en la investigación médica y biológica, de hecho fue la primera cepa de rata desarrollada para experimentación ya que los laboratorios solo utilizan ratones caseros comunes.

La rata Wistar en la actualidad es una de las cepas de ratas más utilizadas en la experimentación científica. Esta especie se caracteriza por presentar una gran cabeza, orejas largas, posee una longitud de la cola, que siempre es menor que la longitud del cuerpo.

1.1.11 BIOMODELOS DE INDUCCIÓN A LA HIPERGLUCEMIA

1.1.11.1 BIOMODELOS INDUCIDOS

Como un modelo de inducción tenemos la administración de estreptozotocina (STZ), que es un antibiótico que afecta a las células beta del páncreas, en dosis altas, produce insulino deficiencia inclusive cetosis y en dosis menores provoca reducción mínima de la masa de células β , por lo que es aprovechado para generar estado diabético sin tendencia a la cetosis. La estreptozotocina es usada preferentemente por que presenta mayor acción citotóxica. (HUGUÉS, B y otros. 2002).

Otra alternativa es la pancreatectomía parcial que es un método quirúrgico el cuál provoca en el animal de laboratorio diabetes hipoinsulinémica. Para esto se debe extraer alrededor del 90 % de la glándula para producir un aumento estable y moderado de la glucemia. **(BONNER, S y otros. 1988)**

1.1.11.2 LESIONES EN EL HIPOTÁLAMO VENTRO MEDIAL

Es un método en el cuál se produce lesiones que producen un aumento de la sensación de comer (hiperfagia), aumento de los niveles de insulina en sangre (hiperinsulinemia) y obesidad. Consiste en la administración de electrolitos en la parte ventro medial hipotalámica. **(HUGUÉS, B y otros. 2002).**

1.1.11.3 ALTERACIONES DIETÉTICAS

Exceso en el consumo de alimentos ricos en grasas saturadas o azúcares, pueden provocar alteraciones diabéticas.

El consumo de alimentos enriquecidos con grasas saturadas o azúcares simples, como la sacarosa, puede incrementar la concentración de insulina y aumentar su acumulación en el tejido adiposo provocando una reducción en sensibilidad a la insulina e intolerancia a la glucosa en los tejidos. **(HUGUÉS, B y otros. 2002).**

1.1.11.4 INDUCCIÓN HORMONAL

La administración de altas dosis de hormonas como glucagón, glucocorticoides producen hiperglucemia.

Como un ejemplo de glucocorticoides tenemos la administración de dexametasona, que afecta selectivamente a la acción de la resistencia a la insulina en distintos tejidos. También hormonas como las catecolaminas, la somatostatina y las glándulas tiroideas pueden provocar dicho efecto. **(CLIFFORD., J, FLATT., F. 1998)**

1.1.12 TEATINA (*Scoparia dulcis* L).



IMAGEN No 2: Planta de teatina (*Scoparia dulcis* L)

FUENTE: MURTI, K y otros. 2012

1.1.12.1 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

CUADRO No 2: Clasificación científica de (*Scoparia dulcis* L).

Reino	Plantae
Familia	Scrophulariaceae
División	Plantae
Genero	Scoparia
Especie	Dulcis
Nombre común	Teatina
Orden	Scrophulariales

FUENTE: MURTI, K y otros. 2012

1.1.12.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La Teatina es una planta que se desarrolla generalmente en suelos de clima tropical.

En América del sur, en la selva amazónica ecuatoriana, algunas ciudades del litoral ecuatoriano, países como Estados Unidos, Brasil y Perú son lugares en los que se desarrolla esta planta. (**MURTI, K y otros.** 2012)

1.1.12.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La teatina es una planta herbácea erecta que alcanza una altura de hasta 50 cm, posee tallos glabros y hojas que llegan hasta los 5 cm de longitud, son ovadas, pecioladas, obtusas en el ápice, con bordes aserrados. Sus flores son hermafroditas con corola blanca, sépalos de 2 mm de largo. El fruto de 3 mm de largo con numerosas de semillas muy menudas y florece durante todo el año. (**MURTI, K y otros.** 2012)

1.1.12.4 DATOS AMBIENTALES

Clima: se desarrolla en bosque húmedo tropical, con temperatura promedio anual de 18 a 24°C y precipitación pluvial de 1 200 a 3 300 mm/año.

Suelo: deben ser suelos que presenten buen drenaje.

1.1.12.5 CULTIVO

Época de siembra: la siembra se la puede realizar durante todo el año.

Espaciamiento: la distancia mínima que debe haber es de 50 cm x 50 cm.

Labores de cultivo: por ser una planta rustica, no necesita de cuidados.

Enemigos naturales: No presenta.

Propagación: se lo realiza mediante la semilla sexual, esta especie presenta fácil propagación mediante regeneración natural.

1.1.12.6 COSECHA Y CONSERVACIÓN DEL PRODUCTO

Partes aprovechadas: toda la planta

Cosecha: En cualquier mes del año. Florece de septiembre a febrero.

Manejo post-cosecha: Secar bajo la sombra para obtener un adecuado secado y que sus componentes se mantengan.

1.1.12.7 PROPIEDADES

“Se le atribuyen varias propiedades terapéuticas entre ellas tenemos: antiespasmódico digestivo, tónico estomacal, antiséptico, expectorante, de gran ayuda en el tratamiento de hemorroides, problemas renales, broncopulmonares, etc.” **(VEGA, M. 2001).**

En el Ecuador nuestros indígenas utilizan la planta para calmar dolores, lavar heridas, como anticonceptivo), abortivo, para reducir la fiebre, náuseas, tos excesiva, para la diabetes, hipertensión y suaviza la piel. **(SELVA TROPICAL, 2011)**

1.1.12.8 COMPOSICIÓN QUÍMICA

La investigación científica de esta planta revela datos sobre la composición química, es así que presenta: alcaloides, cumarinas, fenoles, saponinas, taninos, aminoácidos, flavonoides, terpenoides y catecolaminas, escoparol, glutinol, amelina, mucílagos, berberina, carbohidratos, ácido málico, palmítico y acético **(RATNASOORIYA, W y otros. 2005).**

CÁPITULO II

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, los cuales se detallan a continuación:

Laboratorio de Bromatología

Laboratorio de Productos Naturales.

Laboratorio de Análisis Instrumental.

Laboratorio de Análisis Clínico.

Bioterio

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.

2.2.1 MATERIA PRIMA

El material vegetal de teatina (*Scoparia dulcis L*) se recolectó a 8 msnm, a una temperatura de 26 °C, en el cantón Babahoyo, Provincia de los Ríos.

2.2.2 MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas (*Rattus novergicus*), provenientes del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

Las ratas se dividieron en 6 grupos: grupo B (blanco), grupo C+ (control positivo), Grupo C-(control negativo), Grupo T₁ (tratamiento al 40%), grupo T₂ (tratamiento al 60%) y grupo T₃ (tratamiento al 80%).

Taxonomía

CUADRO No 3: Taxonomía de las ratas.

Reino	<i>Animalia</i>
Phylum	<i>Chordata</i>
Clase	<i>Mammalia</i>
Orden	<i>Rodentia</i>
Familia	<i>Muridae</i>
Genero	<i>Rattus</i>
Especie	<i>Novegious</i>

FUENTE: ÁLVAREZ, J., MEDELLÍN, R 2005

2.2.3 MATERIALES DE LABORATORIO

CUADRO No 4: Materiales de Laboratorio, Equipos y Reactivos.

Materiales	Vasos de precipitación de 50, 100, 250 y 500ml
	Probetas de 25, 50 y 100ml
	Pipetas graduadas de 1, 5, 10 y 25ml
	Mortero
	Pistilo
	Matraz Erlenmeyer de 250ml
	Tubos de ensayo
	Embudo de separación
	Espátula
	Embudos
	Pipetas Pasteur
	Capilares de vidrio
	Placas de silica gel
	Pinzas de soporte
	Cámara cromatográfica
	Balanza
	Gradilla
	Lancetas
	Jeringas
	Papel aluminio
	Algodón
	Refrigerante
	Puntas para Micropipetas
	Cánulas orogástricas.
	Cepo
	Malla
	Cajas de polipropileno
	Bebederos
	Toallas de limpieza
	Trípodes
	Estufa
	Espectrofotómetro
	Equipo de disección
	Micropipetas

Equipos	Revelador Luz U.V.
	Peachímetro
	Rotavapor
	Mufla
	Bomba para vacío
	Refractómetro
	Baño María
	Microcentrifuga
	Balanza analítica
Reactivos	Hexano
	Ácido fórmico
	Ácido Sulfúrico con.
	Ácido Acético
	Hidróxido de amonio
	Acetato de etilo
	Tolueno
	Acetona
	Cloroformo
	Reactivo de Dragendorf f
	Reactivo de Wagner
	Reactivo de Baljet
	Agua destilada
	Reactivo de Boutrager
	CO ₂
	Formol
	Éter etílico
	Alcohol 96%
	Reactivo de Sudan III
	Hidróxido de sodio
	Metanol
	Cloruro de sodio
	Reactivo de hemoglobina
	Twen 80
	Glucosa
	Alcohol al 96%

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

2.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.3.1 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Para este estudio se realizó 7 subextractos que se detallan a continuación:

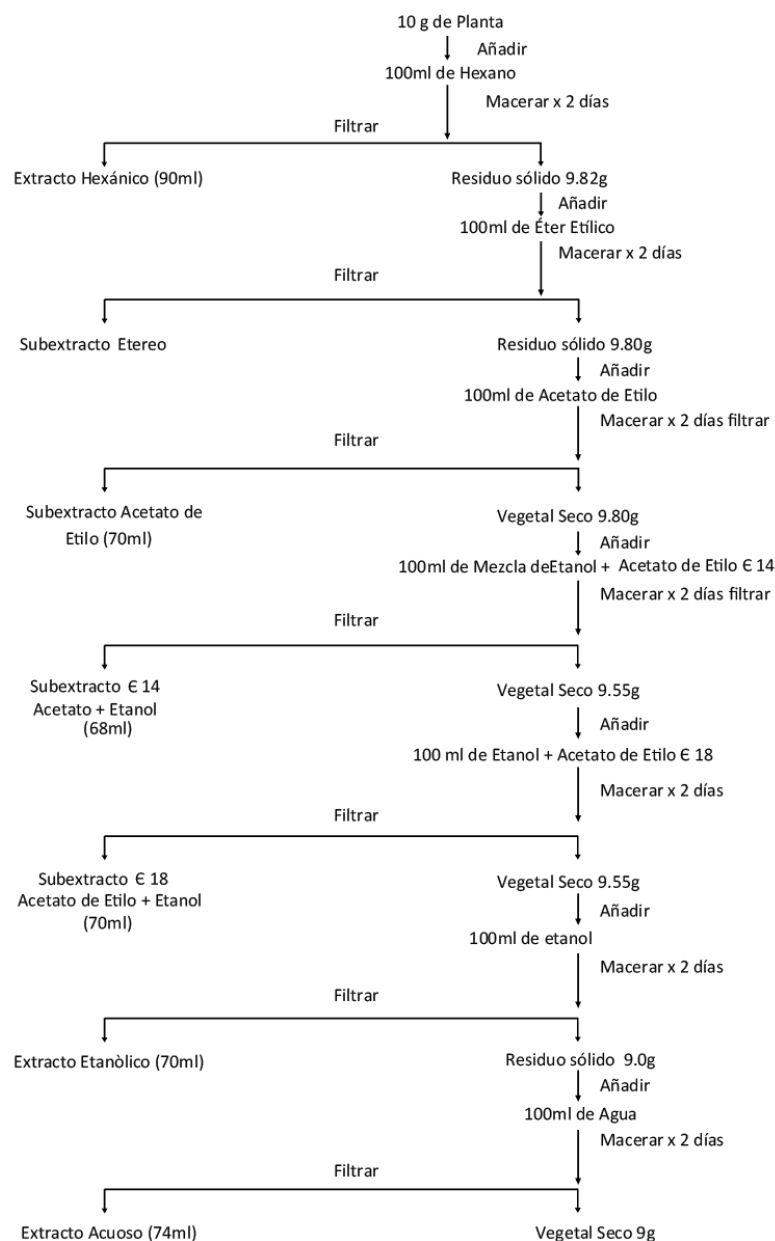


FIGURA No 1: Esquema de la obtención de los diferentes subextractos de *Scoparia dulcis L.*

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

2.3.1.1 SUBEXTRACTO ALCOHÓLICO DE *SCOPARIA DULCIS L.*

Se obtiene el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis L* mediante maceración con alcohol durante dos días. Se filtra la solución la misma que se concentra a sequedad con ayuda de un rotavapor y finalmente se reconstituye con twen 80 al 1%, la solución debe almacenarse en un frasco ámbar de vidrio para su posterior administración. (BORNÁS, S. 2003).

2.3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL VEGETAL

Control de calidad de la materia prima.

El control de calidad permite determinar la calidad de los extractos obtenidos a partir de drogas seca y controlar o mantener la estabilidad de la misma. (MINSAP. 1992).

Determinación de color.

En un tubo de ensayo previamente lavado y seco se procede a colocar aproximadamente 7 ml de extracto y se observa el color, la presencia de partículas, la transparencia y si existe separación de capas. (MINSAP. 1992).

Determinación de olor.

Se introduce un extremo de papel filtro de aproximadamente 1cm de ancho por 10cm de largo en la muestra y se percibe el olor. (MINSAP. 1992).

Determinación de pH.

La acidez o la alcalinidad de los soluciones se caracterizan por el valor del índice de hidrogeno, pH.

El pH es un valor numérico utilizado para expresar la mayor o menor alcalinidad de una solución en función de los iones hidrogeno.

La determinación del pH se lo realiza con ayuda de un peachimetro al cual se coloca una solución reguladora de pH, posteriormente se determina el valor de pH de la muestra problema. (MINSAP. 1992).

Determinación del índice de refracción.

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, a la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, se ajusta el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo al compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro. Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la solución problema sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma, se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se procede de la misma manera que se lo hace con el agua destilada. (MINSAP. 1992).

Determinación de densidad relativa.

La densidad relativa es la relación entre la masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

Se pesa el picnómetro vacío y seco a 2°C en una balanza analítica, se llena con el extracto hasta ajustar al nivel indicado en el picnómetro, a la temperatura de 25°C (± 1 °C) inmediatamente se pesa el picnómetro con la muestra y se repite el proceso con agua destilada a 25°C. (MINSAP. 1992).

La densidad relativa a 25°C se calcula mediante la siguiente fórmula:

Donde:

M_1 = peso del picnómetro con la muestra (g).

M_2 = peso del picnómetro con el agua (g).

M = peso del picnómetro vacío (g).

Determinación de sólidos totales.

La determinación se valida en la variación de la masa, con la pérdida de las sustancias volátiles, por acción del calor, por medio de evaporación de la porción del ensayo mediante el secado del residuo en la estufa, hasta peso constante, a esto se le asigna como sólidos totales. (MINSAP. 1992).

Determinación de Humedad.

En una cápsula de porcelana previamente tarada se agrega 2g de vegetal pulverizado y molido. Se coloca en la estufa a una temperatura de 105°C durante tres horas. Se coloca en un desecador hasta que se enfríe y se pesa tres veces hasta que tenga un peso constante, la medición se realiza cada 30 minutos. (MIRANDA, M. 2000)

Se calcula el porcentaje de humedad mediante la fórmula siguiente:

$$H = \frac{m_2 - m}{m_2 - m} \times 100$$

H = Pérdida de peso por desecación (%).

m = Peso de la cápsula más la muestra (g).

m₁ = Peso de la cápsula más la muestra (g).

m₂ = Peso de la cápsula más la muestra (g).

100 = Factor matemático para los cálculos.

Determinación de cenizas totales.

A 2g de vegetal pulverizado y molido se coloca en un crisol previamente tarado, se calienta la muestra hasta carbonizarla y posteriormente se la coloca en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, durante 2 horas.

Se coloca en un desecador hasta que se enfríe y se pesa tres veces hasta que tenga un peso constante, la medición se realiza cada 30 minutos.

Si la muestra posee residuos de carbón se adiciona peróxido de hidrogeno concentrado y calentar hasta que se evapore obteniéndose así un residuo de color blanco. (MIRANDA, M. 2000)

La fórmula para su cálculo es:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

C = Porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = Masa del crisol vacío (g)

M₁ = Masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M_2 = Masa del crisol con la ceniza (g)

100 = Factor matemático para los cálculos.

Determinación de cenizas solubles en agua

Las cenizas obtenidas anteriormente, añadir 15ml de agua. El crisol se tapa y se coloca en un reverbero hasta que hierva durante 5 minutos y luego se filtra. El residuo se coloca en un crisol, se carboniza y se coloca en la mufla a 700 o 750°C, durante 2 horas. Se coloca en el desecador hasta que se enfríe y se pesa cada 30 minutos hasta obtener una temperatura constante. (MIRANDA, M. 2000)

La fórmula para su cálculo es:

$$Ca = \frac{M_2 - Ma}{M_1 - M} \times 100$$

Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M_2 = masa del crisol con las cenizas totales (g)

Ma = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M_1 = masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M = masa del crisol vacío.

100 = factor matemático.

Determinación de cenizas solubles en ácido clorhídrico.

A las cenizas totales que fueron obtenidas se añaden 2 ml de ácido clorhídrico al 10% en un crisol en donde se les cubre con un vidrio reloj y se calienta en un baño de agua durante 10 minutos, se lava el vidrio reloj con 5 ml de agua caliente y se coloca en el crisol. (MIRANDA, M. 2000)

Se filtra la solución y se enjuaga con agua caliente, al cual se adiciona una gota de nitrato de plata 0.1 mol/L, para que no haya la presencia de cloruros, en donde se coloca nuevamente en el crisol y se deseca a una temperatura de 105°C, luego se le coloca en la mufla a una temperatura de 700 a 750°C durante 2 horas.

Se coloca en el desecador hasta que se enfríe y se pesa cada 30 minutos hasta obtener una temperatura constante. (**MIRANDA, M.** 2000)

La fórmula para su cálculo es:

$$B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

B = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa del crisol con la porción de ensayos (g)

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático.

2.3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación. Debe de permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente en una orientación y debe de interpretarse en conjunto con los resultados del screening farmacológico. (**BRUNETON, J.** 2001)

2.3.3.1 ENSAYO DE DRAGENDORFF

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++). (**MIRANDA, M.** 2000)

2.3.3.2 ENSAYO DE MAYER

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución

reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++). (**MIRANDA, M.** 2000)

Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias. (**MIRANDA, M.** 2000)

2.3.3.3 ENSAYO DE WAGNER

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma. (**MIRANDA, M.** 2000)

2.3.3.4 ENSAYO DE SUDAN III

El ensayo de Sudán III, permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos, respectivamente. Para ello, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente. (**MIRANDA, M.** 2000)

2.3.3.5 ENSAYO DE BALJET

El ensayo de Baljet, permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas, aunque otros compuestos láctónicos pueden dar también positivo este ensayo. En estas condiciones se considera la presencia de esta familia de compuestos por la aparición de una coloración y un precipitado (**MIRANDA, M.** 2000)

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 ml). En

estas condiciones se adiciona 1 mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.

2.3.3.6 ENSAYO DE LIEBERMANN - BURCHARD

La presencia de triterpenos y/o esteroides, se puede realizar a través del ensayo de Liebermann - Burchard, debido a que ambos tipos de productos poseen un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. (MIRANDA, M. 2000)

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- 1- Rosado-azul muy rápido.
- 2- Verde intenso-visible aunque rápido.
- 3- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. (MIRANDA, M. 2000)

IMPORTANTE: Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente. La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes. (MIRANDA, M. 2000)

2.3.3.7 ENSAYO DE NINHIDRINA

La presencia de aminoácidos libres o de aminas en general se realiza a través del ensayo de Ninhidrina. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color violáceo.

Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2 % de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5-10 minutos en baño de agua (**MIRANDA, M. 2000**)

2.3.3.8 ENSAYO DE SHIDONA

El ensayo de Shinoda, permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo, intensos en todos los casos. (**MIRANDA, M. 2000**)

Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. (**MIRANDA, M. 2000**)

2.3.3.9 ENSAYO DE BORNTTRAGER

Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el Residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++), coloración roja (+++). (**MIRANDA, M. 2000**)

2.3.3.10 ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS

El ensayo de antocianidinas permite identificar en los extractos la existencia en estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. La aparición de un color rojo a marrón en la fase amfílica es indicativa de un ensayo positivo. (Pereira y col, 2009) Se calientan 2 ml del extracto etanólico 10 min. conc 1 ml de HCL conc. Se deja enfriar y se adiciona 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amfílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amfílica, es indicativa de un ensayo positivo. (MIRANDA, M. 2000)

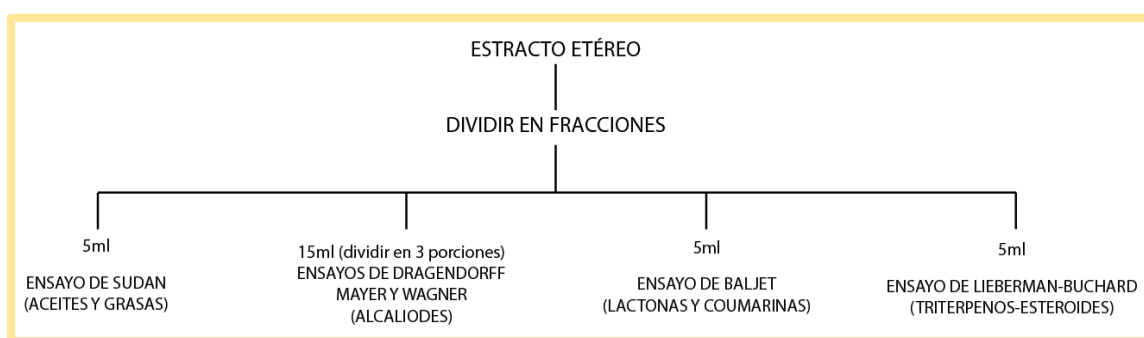


FIGURA No 2: Esquema de las reacciones, realizadas en el extracto de éter etílico.

FUENTE: (MIRANDA, M. 2000)

Nota: las reacciones que se muestran en la figura 2, son también empleadas para los extractos de: hexano, acetato de etilo y las mezclas € 18, € 14; utilizadas en este estudio.

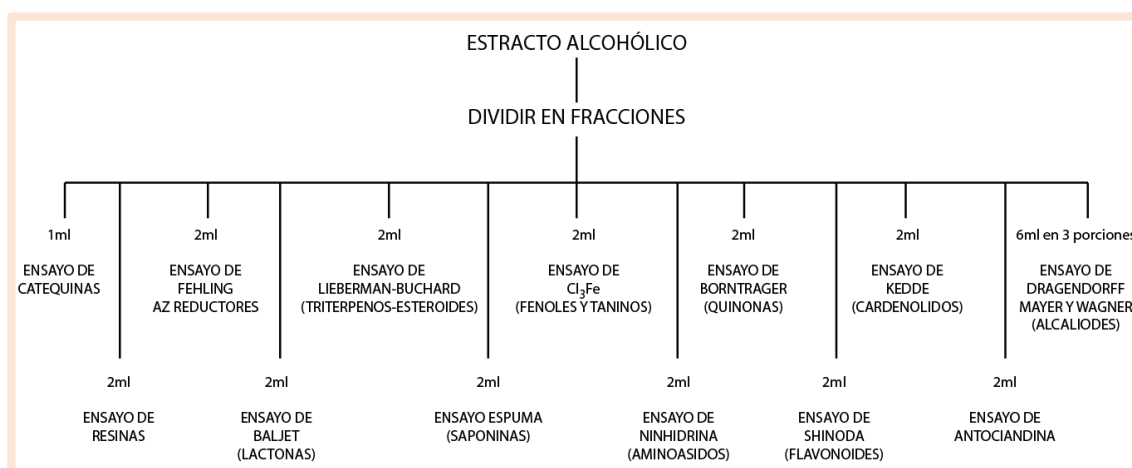


FIGURA No 3: Esquema de las reacciones, realizadas en el Subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L.

FUENTE: (MIRANDA, M. 2000)

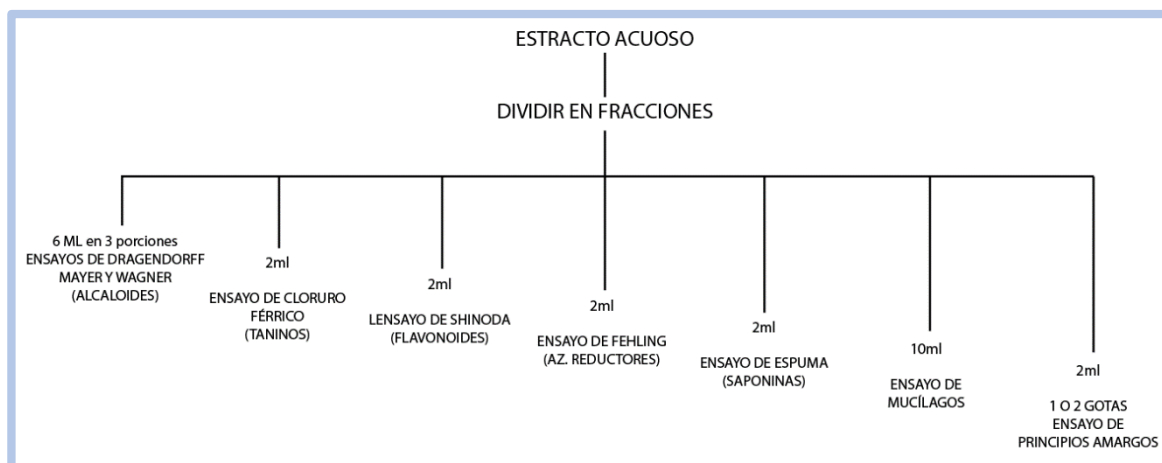


FIGURA No 4: Esquema de las reacciones, realizadas en el Subextracto acuoso *Scoparia dulcis* L.
FUENTE: (MIRANDA, M. 2000)

2.3.4 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EXPRESADOS COMO QUERCETINA.

Evaporar a sequedad el subextracto alcohólico y reconstituir con 5 ml de metanol absoluto.

El estándar de quercetina se coloca con la ayuda de un capilar en una placa TLC sílica gel 60 F264 de 2 cm x 10 cm. En una cuba cromatográfica se coloca la fase móvil conformada por: tolueno, metano, ácido fórmico y agua en las siguientes proporciones: (0.63; 12.5; 1.25; 1.25) respectivamente.

Cuando la fase móvil alcance las $\frac{3}{4}$ partes de la placa, se retira de la cuba cromatográfica, se deja secar por unos minutos y se observa en la lámpara UV 312 nm y se marcan las manchas que presentan fluorescencia, seguido se procede a revelar

con sulfato de cerio y se coloca en calor durante 5 minutos para visibilizar la coloración

El subextracto alcohólico se coloca con la ayuda de un capilar, en una placa TLC sílica gel 60 F264 de 10cm x 20cm, se deja correr la fase móvil hasta alcanzar las $\frac{3}{4}$ partes de la placa. Se retira la placa se deja secar por unos minutos y se procede a revelar pero solo 1 cm de placa el resto de la placa se tapa con papel aluminio para su posterior raspado.

Se compara las dos placas y la mancha que coincide al R_f del estándar se procede a raspar, se coloca la sílica raspada en un tubo de ensayo previamente tarado y se realiza lavados con metanol hasta que tome el color característico de la sílica.

La sílica se deja secar y se pesa, el peso de sílica será utilizado como el estándar de la planta investigada.

Al filtrado se realiza un barrido en el espectrofotómetro a una λ de 200 nm a 400 nm. Se observan los picos que presenta la sustancia y se utiliza la λ a la que mejor se observen los picos y a esta λ se leerán los diferentes subextractos para la cuantificación de flavonoides.

Cuantificación de flavonoides totales:

$$x = \frac{Am \times Pr \times 5}{Ar}$$

X = Contenido de flavonoides %

Am= Absorbancia de la muestra (nm)

Pr= Peso de la sustancia de referencia (g)

Ar= Absorbancia de la sustancia de referencia (nm)

2.3.5 ENSAYO DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE

2.3.5.1 DETERMINACIÓN DE CONDICIONES BASALES

Se va a someter a las ratas seleccionadas para nuestro estudio a un tiempo de ambientación durante 7 días, manteniéndolas en cajas plásticas de polipropileno y en condiciones ambientales controladas de temperatura ($22-24 \pm 1.8$ °C), humedad relativa de ($59.8 \pm 5.5\%$) y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Condiciones basales para los animales de experimentación (ratas):

Peso corporal entre 290-300g.

Animales en buen estado de salud.

Glicemia entre 80-110 mg/dl (**CHARLES, R.** 1984)

2.3.5.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE SANGRE DE LA COLA DE LA RATA

Para la extracción de la sangre se empleó un cepo con un pequeño agujero para asilar la cola, con la finalidad de facilitar la manipulación, se sujetó firmemente la cola para desinfectar con alcohol y con ayuda de un bisturí se procedió a realizar un pequeño corte en el extremo de la cola y haciendo una ligera presión se obtiene la sangre la misma que se recoge en un capilar.

Se usó esta técnica de corte de la cola por dos razones, para evitar la vía del seno retro orbital la cual produce mucho stress al animal, perdidas oculares y el empleo de anestésico lo cual provocaría interacción con la actividad que se está investigando y también porque se necesitaba mayor cantidad de muestra ya que posteriormente se emplearía en un espectro para la determinación de glucosa.

2.3.5.3 DETERMINACIÓN DE GLUCOSA MEDIANTE ESPECTROFOTÓMETRO.

Método GOD- PAD (Prueba enzimática colorimétrica por glucosa).

La glucosa se determina después de la oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrogeno formado reacciona bajo la catálisis de peroxidasa con fenol y 4- aminofenazona formando un complejo rojo-violeta usando la quinoneimina como indicador.

Muestras

Plasma, suero.

La glucosa es estable por 2 horas de 2...8°C, si el suero o plasma es separado dentro de 30 minutos después de la toma de muestra de sangre.

Ensayo

Longitud de onda: 500nm, Hg 546nm.

Paso de luz: 1 cm

Temperatura: 20...25 °C o 37 °C

Medición: frente a un blanco de reactivo. Se requiere un blanco de reactivo por serie.

TABLA No 1: Esquema de pipeteo para la determinación de glucosa.

	Semi-micro	
Pipetear en cubetas	STD o Muestra	Blanco de reactivo
STD o Muestra	10 ul	-----
	1000 ul	1000 ul

2.3.5.4 INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA EN RATAS

Se administró a las ratas en estudio sobrecarga de glucosa por vía oral, para inducir a hiperglicemia en una cantidad de 3g/kg de peso.

2.3.5.5 TRATAMIENTO A BASE DEL SUBEXTRACTO

Se realizó el tratamiento por vía oral con el subextracto alcohólico de (*Scoparia dulcis L*) en tres concentraciones diferentes.

Para ello se utilizó ratas machos, de 7 semanas de edad, con un peso promedio de 290-310g que fueron mantenidos en cuarentena durante 7 días con libre disposición de alimentos y agua, controlando la temperatura y ciclos circadianos de doce horas luz, doce horas oscuridad.

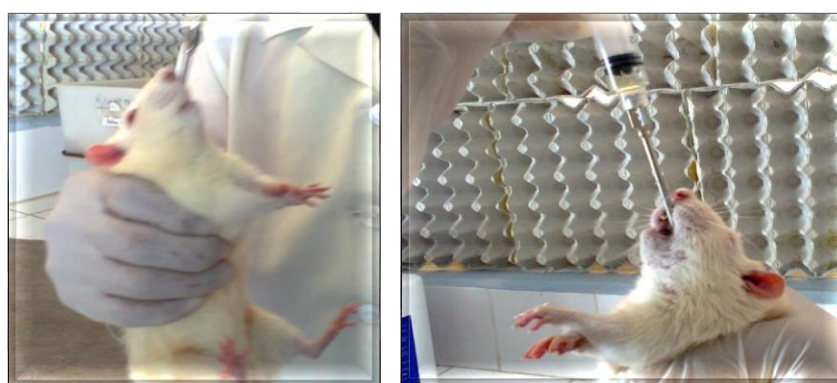
Las ratas fueron sometidas a un ayuno de 12 horas y disposición de agua *ad libitum*. Después de las doce horas de ayuno se determinó la glicemia basal de todos los grupos en estudio, para lo cual se realizó pequeños cortes en las colas y se determinó los

niveles de glicemia mediante el espectrofotómetro, por el Método GOD- PAD (Prueba enzimática colorimétrica por glucosa).

Una vez evaluada la glicemia inicial se procedió a la administración de los diferentes tratamientos que se detallan a continuación:

TABLA No 2: Grupos de tratamientos de experimentación.

Código	Grupo	Número de animales	Tratamiento
B	Blanco	3	Sin tratamiento
C+	Control positivo	3	Glibenclamida 5mg/Kg
C-	Control negativo	3	Solución de glucosa 3g/kg
T ₁	Tratamiento 1	3	Subextracto alcohólico al 40%
T ₂	Tratamiento 2	3	Subextracto alcohólico al 60%
T ₃	Tratamiento 3	3	Subextracto alcohólico al 80%



FOTOGRAFÍA No 1: Administración de los tratamientos

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

2.3.5.6 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Este estudio se realizó para evaluar efectos tóxicos en los órganos más importantes (riñón, hígado y estómago), de los grupos seleccionados, tras la administración de las dosis estudiadas.

CÁPITULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

CUADRO No 5: Control de calidad de la materia prima.

Parámetro	<i>Scoparia dulcis</i> L (%)
Determinación de humedad	11
Determinación de cenizas totales	2.15
Determinación de cenizas solubles en agua	0.38
Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	0.013

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

Como se observa en el cuadro 5, los resultados para humedad es de 11%, cenizas totales 2.15%, cenizas solubles es agua 0.38% y cenizas insolubles en ácido 0.013%. Los valores se encuentran dentro de los límites establecidos por la farmacopea 2002. Por lo cual esta planta resulta ser idónea para la elaboración de un extracto.

La determinación de estos parámetros son de mucha importancia es así que, un exceso de humedad en una planta puede provocar el crecimiento de hongos, bacterias, presencia de insectos e hidrólisis de los principios activos, lo cuál afectaría la actividad farmacológica del vegetal estudiado.

La determinación de cenizas totales en una planta, nos da una idea de la presencia de metales pesados ((Pb, Cu, Ni, Zn y C), que pudieron contaminar a la misma, en el lugar donde se desarrolló antes de haberla recolectado.

Por otro lado la determinación de cenizas ácido insolubles muestra el resultado de la presencia de sílica como arena y tierra, tras la ebullición de las cenizas totales con HCl diluido. Con lo cual podemos saber si la planta ha sido sometida a un adecuado proceso de lavado antes de su uso.

3.1.1 CONTROL DE CALIDAD DEL SUBEXTRACTO ALCÓHOLICO DE *Scoparia dulcis L*

CUADRO No 6: Control de calidad del Subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis L*.

Parámetro	Resultado
Aspecto	Transparente
Color	Verde
Olor	Alcohólico
Sabor	Amargo

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

En el cuadro 6, se muestra los parámetros de la evaluación organoléptica del subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis L*, los mismos que están acorde con las características propias del vegetal. Presenta un aspecto transparente, libre de partículas residuos; su color es verde característico de la planta; olor alcohólico por el etanol que se utilizó y de sabor algo amargo por la presencia de alguno de sus componentes.

3.1.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO- QUÍMICOS.

TABLA No 3: Determinación de los parámetros físico- químicos.

Parámetro	Resultado
Densidad	0.80
pH	5.82
Índice de refracción	1.363

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

El resultado expresado en la tabla 3 muestra que el subextracto alcohólico presenta un valor de densidad de 0.80, comparado con la densidad que presenta el alcohol 0.70, se puede decir que hay componentes que proceden de la planta.

El pH nos indica el grado de acidez o basicidad de una sustancia, su escala va de 0 a 14, en el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis L*, el pH es de 5.84 lo que representa un pH ligeramente ácido, el cual es adecuado para evitar la proliferación de bacterias u otras tipos de degradación.

En la tabla 3 se muestra un valor de 1.363 para el índice de refracción, con lo cual nos indica que el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis L* presenta una cantidad alta de solidos solubles.

3.2 TAMIZAJE FITOQUIMICO

Se realizó el tamizaje fitoquímico a todos los subextractos.

El tamizaje fitoquímico constituye un procedimiento muy importante ya que a través de esto podemos identificar cualitativamente los componentes químicos que presenta la planta objeto de estudio.

RESULTADO DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO HEXANICO
DE *Scoparia dulcis* L. JULIO 2014.

CUADRO No 7: Resultado del tamizaje fitoquímico del extracto Hexánico de
Scoparia dulcis L. Julio 2014.

Compuesto	Ensayo	Resultado
Aceites y grasas	Sudam	+
Alcaloides	Dragendorff	-
Lactonas y cumarinas	Baljet	-
Alcaloides	Mayer	++
Alcaloides	Wagner	-
Triterpenos y/o esteroides	Liebermand	+

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

RESULTADO DEL TAMIZAJE FITOQUIMICO DEL SUBEXTRACTO ETÉREO
DE *Scoparia dulcis* L. JULIO 2014.

CUADRO No 8: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto Etéreo de
Scoparia dulcis L. Julio 2014.

Compuesto	Ensayo	Resultado
Aceites y grasas	Sudam	+
Alcaloides	Dragendorf	-
Lactonas y cumarinas	Baljet	-
Alcaloides	Mayer	++
Alcaloides	Wagner	-
Triterpenos y/o esteroides	Liebermand	+

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

RESULTADO DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL SUBEXTRACTO DE ACETATO DE ETILO DE *Scoparia dulcis* L. JULIO 2014.

CUADRO No 9: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto de acetato de etilo de *Scoparia dulcis* L. Julio 2014.

Compuesto	Ensayo	Resultado
Aceites y esteroides	Sudam	+
Alcaloides	Dragendorf	-
Lactonas y cumarinas	Baljet	-
Alcaloides	Mayer	++
Triterpenos y/o esteroides	Liebermand	+

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

RESULTADO DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL SUBEXTRACTO DE LA MEZCLA €18 (ACETATO DE ETILO + ETANOL) DE *Scoparia dulcis* L. JULIO 2014.

CUADRO No 10: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto de la mezcla €18 (Acetato de etilo + Etanol) de *Scoparia dulcis* L. Julio 2014.

Compuesto	Ensayo	Resultado
Aceites y esteroides	Sudam	+
Alcaloides	Dragendorf	-
Lactonas y cumarinas	Baljet	-
Alcaloides	Mayer	++
Alcaloides	Wagner	-
Triterpenos y/o esteroides	Liebermand	+

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

RESULTADO DEL TAMIZAJE FITOQUIMICO DEL SUBEXTRACTO DE LA MEZCLA €14 (ACETATO DE ETILO + ETANOL) DE *Scoparia dulcis* L. JULIO 2014.

CUADRO No 11: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto de la mezcla €14 (Acetato de Etilo + Etanol) de *Scoparia dulcis* L. Julio 2014.

Compuesto	Ensayo	Resultado
Aceites y esteroides	Sudam	+
Alcaloides	Dragendorf	-
Lactonas y cumarinas	Baljet	-
Alcaloides	Mayer	++
Triterpenos y/o esteroides	Liebermand	+

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

RESULTADO DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL SUBEXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Scoparia dulcis* L. JULIO 2014.

CUADRO No 12: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L. Julio 2014.

Compuesto	Ensayo	Resultado
Catequinas		-
Resinas	Resinas	-
Feling	Azúcares reductores	+
Baljet	Lactonas y cumarinas	-
Lieberman- buchard	Triterpenos y/o esteroides	+
Espuma	Saponinas	+
Cl₃Fe	Taninos	+
Borntrager	Quinonas	-
Shinoda	Flavonoides	++
Antocianidinas	Flavonoides	+
Dragendorf	Alcaloides	++

Wagner	Alcaloides	++
Mayer	Alcaloides	-

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

RESULTADO DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL SUBEXTRACTO ACUOSO DE *Scoparia dulcis* L. JULIO 2014.

CUADRO No 13: Resultado del tamizaje fitoquímico del subextracto Acuoso de *Scoparia dulcis* L. Julio 2014.

Compuesto	Ensayo	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	-
Mayer	Alcaloides	-
Wagner	Alcaloides	-
Cl₃Fe	Taninos	+
Shinoda	Flavonoides	++
Fehling	Azucres reductores	+
Espuma	Saponinas	+
Mucilagos	Mucilagos	+
Principios amargos		+

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

Dónde:

(-) Significa que la presencia del metabolito es negativa a ausente.

(+) o (++) Significa que la presencia del metabolito es poco o escaso.

Significa que se obtuvo una intensidad moderada de la reacción para ese metabolito

(+++ Significa que la presencia del metabolito secundario es abundante.

El estudio fitoquímico realizado en los diferentes subextractos dió positivo para los siguientes metabolitos: compuestos grasos, alcaloides, triterpenos y esteroides, azucres, saponinas, taninos, principios amargos, mucilagos y flavonoides; que concuerda con la investigación química realizada en el 2005 por Ratnasooriya y col., en el cual a más de estos metabolitos encontró catecolaminas, escoparol, glutinol.

3.3 ESTUDIO CROMATOGRÁFICO

Para el estudio cromatográfico se utilizó un estándar de referencia que fue la quercetina.

El subextracto alcohólico y el estándar de quercetina se corrieron en la siguiente fase móvil: Tolueno, etanol, ácido fórmico y agua, 0.63:12.5:1.25:1.25 respectivamente, la fase estacionaria: sílica gel 60 F 254 y como revelador: sulfato de Cerio.

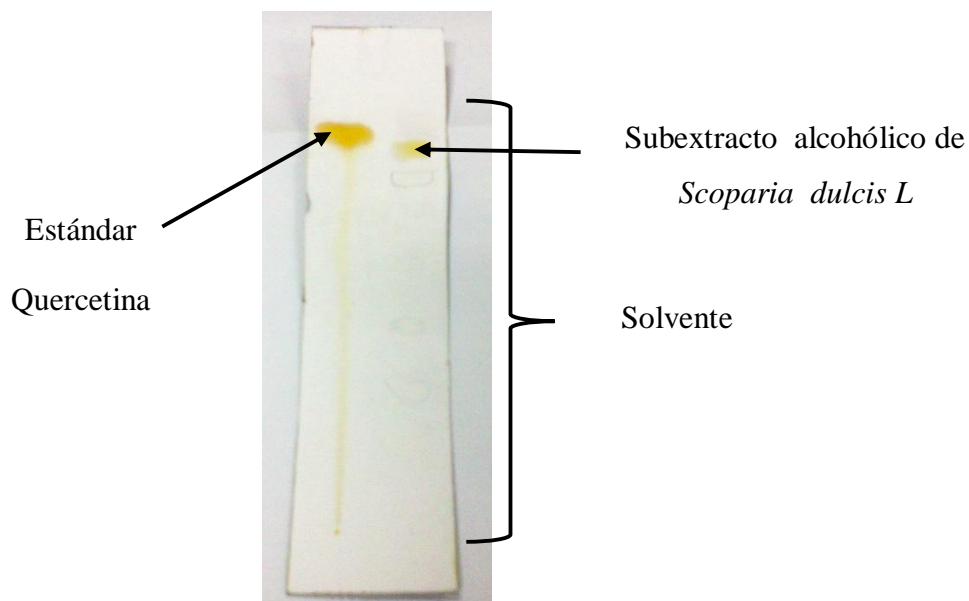
El subextracto alcohólico después del revelado presentó una mancha con un Rf de 0.87 de color amarillo, de la misma manera el estándar de referencia (quercetina) presentó un Rf de 0.88 de color amarillo, que concuerda con los datos de bibliografía (Wagner, 2006), por lo tanto son similares en cuanto a sus Rf, lo que indica que el subextracto alcohólico presenta este componente flavónico.

Resultado cromatográfico del estándar de quercetina y el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L.

TABLA No 4: Resultado cromatográfico del estándar de quercetina y el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L.

Componente	Rf
Estándar de quercetina	0.88
Subextracto alcohólico	0.87

ELABORADO POR: NARANJO; 2014



FOTOGRAFÍA No 2: Placa cromatográfica del estándar de Quercetina y subextracto alcohólico *Scoparia dulcis* L

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

La cromatografía se realizó a todos los subextractos, sin embargo se escogió la cromatografía de extracto alcohólico ya que en este se presenta mayor intensidad del color al momento de revelar, lo que nos indica que en este hay mayor cantidad del componente flavónico.

3.4 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE QUERCETINA.

Se utilizó el subextracto alcohólico para la cuantificación de flavonoides ya que en este se encuentra más intenso el color amarillo después del revelado, lo que indica que en este extracto habrá mayor cantidad de flavonoides.

Cuantificación de flavonoides

TABLA No 5: Cuantificación de flavonoides expresados en % de quercetina.

Extractos	Absorbancias	Longitud de onda	Cuantificación de flavonoides expresados en % de quercetina
Hexano	0.745	219 nm	0.059086206
Éter	0.490	219 nm	0.038862068
Acetato de etilo	2.966	219 nm	0.235234482
€18	3.012	219 nm	0.238882758
€14	2.999	219 nm	0.237851724
Alcohólico	3.137	219 nm	0.248796551
Acuoso	1.513	219 nm	0.119996551
Σ			1.1787

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

En la tabla 5 muestra la cantidad de flavonoides que presentaron los diferentes subextractos, siendo un total de 1.17 ± 0.09 % en una concentración de 20 ppm de extracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L.

3.5 ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE

El protocolo experimental con el que se llevó a cabo el estudio fue el siguiente:

TABLA No 6: Grupos de tratamientos

Código	Grupo	Número de animales	Tratamiento
B	Blanco	3	Sin tratamiento
C+	Control positivo	3	Glibenclamida 5mg/ Kg
C-	Control negativo	3	Solución de glucosa 3g/kg
T ₁	Tratamiento 1	3	Subextracto alcohólico al 40%
T ₂	Tratamiento 2	3	Subextracto alcohólico al 60%
T ₃	Tratamiento 3	3	Subextracto alcohólico al 80%

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

Para este estudio se utilizaron 6 grupos como se detallan en la tabla 6, los cuales fueron mantenidos en cuarentena durante 7 días, con un peso promedio de 297 ± 10 g, de 7 semanas de edad, controlando las condiciones ambientales de temperatura ($22-24 \pm 1.8$ °C), humedad relativa de ($59.8 \pm 5.5\%$) y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

3.5.1 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DE LOS TRATAMIENTOS.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL SUBEXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Scoparia dulcis* L, PARA GLICEMIA BASAL. LABORATORIO ANALISIS BACTERIOLÓGICOS Y CLÍNICOS. SEPTIEMBRE 2014.

TABLA No 7: Análisis estadístico de la actividad hipoglicemiante del Subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, para glicemia basal. Laboratorio análisis bacteriológicos y clínicos. Septiembre 2014.

Grupos	T1	T2	T3	C+	C-	B
N	3	3	3	3	3	3
Media	80.6000	78.3667	79.5000	93.6333	83.9000	81.7667
Mediana	76.6000	77.7000	81.2000	98.4000	86.5000	82.3000
Varianza	98.4900	46.5733	43.7700	75.5633	91.5600	1.6533
Desviación Típica	9.9242	6.8245	6.6159	8.6927	9.5687	1.2858
Mínimo	73.3000	71.9000	72.2000	83.6000	73.3000	80.3000
Máximo	91.9000	85.5000	85.1000	98.9000	91.9000	82.7000

En relación al análisis de glucosa basal por grupo de estudio, los datos recolectados presentan una reproducibilidad elevada con lo cuál se garantiza la eficacia y precisión del ensayo.

De tal manera que se puede observar que dentro de los grupos relevantes de estudio, el grupo T3 presenta una desviación mínima de 6.61 en relaciona al grupo T2, cuya dispersión se ve reflejada en su desviación de 9.92, dichos valores son mínimos y no afecta en la homogeneidad de los resultados obtenidos.

Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa basal de los diferentes tratamientos.

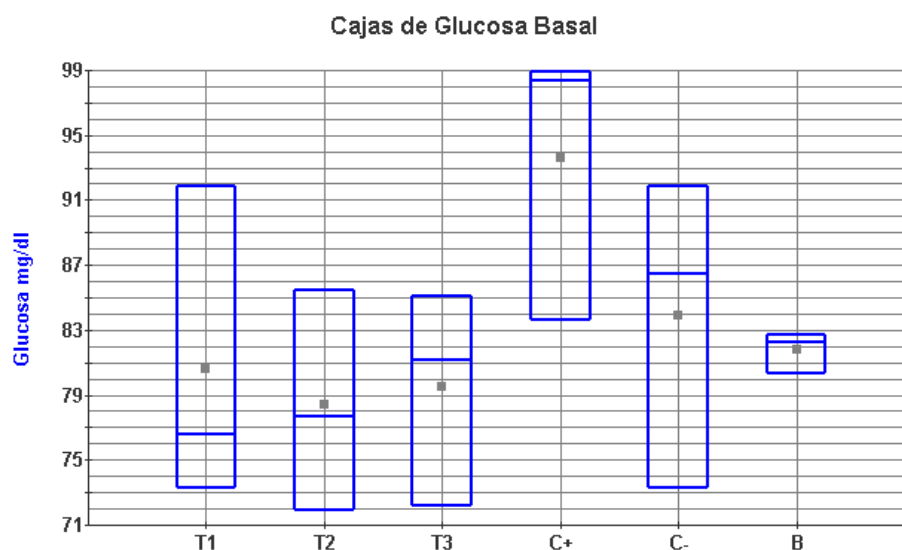


GRÁFICO No 1: Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa basal de los diferentes tratamientos.

Con respecto al grafico 1 se puede decir que todos los grupos a excepción del grupo blanco, presentan la misma variabilidad de datos, pero en cuanto a su valor de media todos los grupos se encuentran entre valores cercanos.

Mediantes estos datos podemos decir que los datos obtenidos reflejan que los animales utilizados en este estudio presentaron condiciones basales adecuadas.

Anova de un factor datos agrupados para glucosa basal de los diferentes tratamientos.

TABLA No 8: Anova de un factor datos agrupados para glucosa basal de los diferentes tratamientos.

Número de Casos: 18

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	464.6028	5	92.9206	1.5590	0.2445
Dentro Grupos	715.2200	12	59.6017		
Total (corr.)	1179.8228	17			

En el test de anova se determinó un p-valor de 0.2445, con lo cual aceptamos la hipótesis alternativa y rechazamos la hipótesis nula, estableciendo que no hay diferencias estadísticamente significativa, entre los grupos de estudios, ya que todos los valores de glicemia son basales.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL SUBEXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Scoparia dulcis* L, PARA GLICEMIA A LOS 30 MINUTOS. LABORATORIO ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS Y CLÍNICOS. SEPTIEMBRE 2014.

TABLA No 9: Análisis estadístico de la actividad hipoglicemiante del subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, para glicemia a los 30 minutos. Laboratorio análisis bacteriológicos y clínicos. Septiembre 2014.

Grupos	T1	T2	T3	C+	C-	B
N	3	3	3	3	3	3
Media	143.7333	142.3333	113.5333	113.1000	150.3333	87.0333
Mediana	138.1000	146.1000	119.4000	114.2000	148.9000	87.0000
Desviación Típica	12.7226	14.9112	12.7555	3.2909	7.3555	0.1528
Mínimo	134.8000	125.9000	98.9000	109.4000	143.8000	86.9000
Máximo	158.3000	155.0000	122.3000	115.7000	158.3000	87.2000

En la tabla estadística de la toma de glucosa después de 30 min de la inducción del tratamiento, se observa que el grupo control negativo presenta un valor de 150.33 mg / dl el valor más alto registrado en esta etapa de estudio, en relación al grupo T3 y C+ que presentan valores de 113.53 mg/dl y 113.1 mg/dl, respectivamente.

Con relación a la varianza y desviación típica el grupo C+ presenta valores de 10.83 y 3.29 respectivamente, estableciendo una reproducibilidad y homogeneidad de datos casi perfecta.

Los grupos restantes de estudio presentan valores de desviación entre 7 y 14 con lo cual se establece una homogeneidad aceptable de los datos recolectados.

Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 30 minutos de los diferentes tratamientos.

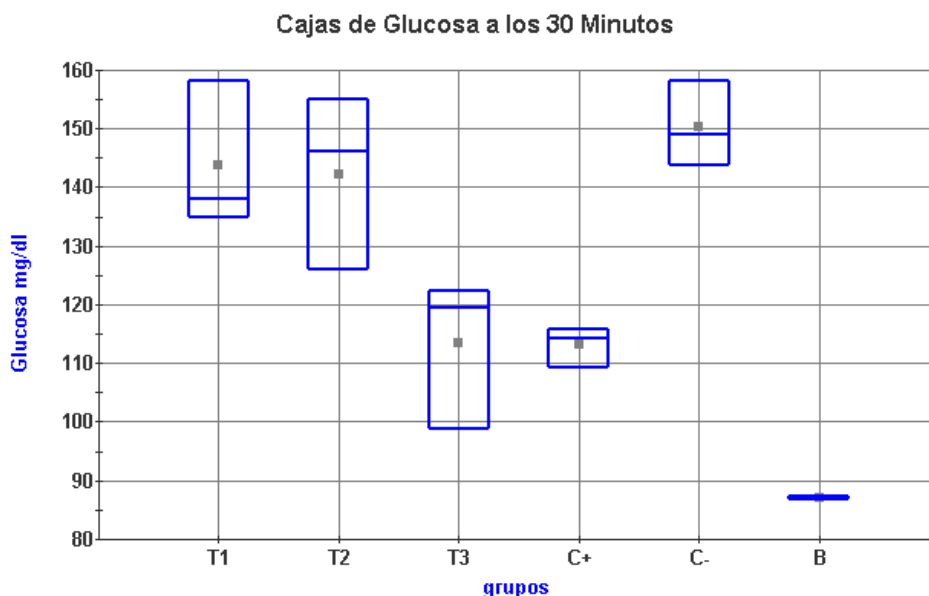


GRÁFICO No 2: Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 30 minutos de los diferentes tratamientos.

En el gráfico esquemático 2 se puede observar que el C+ presenta una caja muy pequeña que refleja la alta reproducibilidad de los datos y su gran homogeneidad, que en relación al T3 se puede intuir que pudieran presentar la misma actividad hipoglicemiante dado que sus valores se encuentran a la misma altura en el gráfico esquemático.

El grupo C- presenta los valores más altos de glucosa reportados además de una reproducibilidad muy aceptable. En relación al grupo T1 y T2 se puede observar que presentan casi la misma dispersión y sus valores de glucosa son muy próximos a los valores del C-.

Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 30 minutos, de los diferentes tratamientos.

TABLA No 10: Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 30 minutos, de los diferentes tratamientos.

Número de Casos: 18

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	9023.1644	5	1804.6329	17.6963	0.0004E-1
Dentro Grupos	1223.7333	12	101.9778		
Total (corr.)	10246.8978	17			

En el test de anova se determinó un p-valor de 0.0004e-1, con lo cual rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa, estableciendo diferencias estadísticamente significativas, entre los grupos de estudios. Debido a que los grupos en esta etapa ya recibieron diferentes tratamientos.

Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glicemia a los 30 minutos, de los diferentes tratamientos.

TABLA No 11: Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glicemia a los 30 minutos, de los diferentes tratamientos.

Método: Tukey HSD al 95.00%

grupos	N	Media	Grupos Homogéneos
B	3	87.0333	X
C+	3	113.1000	X
T3	3	113.5333	X
T2	3	142.3333	X
T1	3	143.7333	X
C-	3	150.3333	X

En el test estadístico de TUKEY HSD (diferencia estadísticamente honesta) al 95%, encontramos que el C+ y el grupo T3 forman un solo grupo de acción hipoglicemiante, con lo cual se evidencia la eficacia del extracto de estudio, por otra parte, el grupo T2, T1 y C-, forman un solo grupo homogéneo, que estadísticamente no varía sus valores de glucosa y no demuestran actividad hipoglicemiante en relación a los grupos de interés.

Gráfica de niveles de glucosa a los 30 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el control negativo.

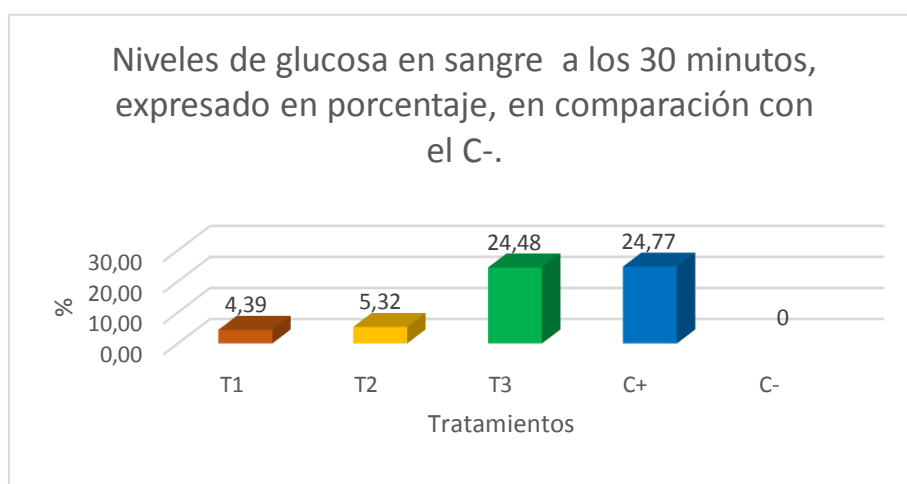


GRÁFICO No 3: Gráfica de los niveles de glicemia a los 30 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el C-.

Con respecto al gráfico 3 se observa que tanto el grupo T3 y C+ presentan alrededor del 24% de glucosa comparado con los demás grupos de tratamiento.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL SUBEXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Scoparia dulcis* L, PARA GLICEMIA A LOS 60 MINUTOS. LABORATORIO ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS Y CLÍNICOS. SEPTIEMBRE 2014

TABLA No 12: Análisis estadístico de la actividad hipoglicemiante del subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, para glicemia a los 60 minutos. Laboratorio análisis bacteriológicos y clínicos. Septiembre 2014.

Grupos	T1	T2	T3	C+	C-	B
N	3	3	3	3	3	3
Media	131.8000	113.5000	90.7333	104.7333	130.0000	78.2000
Mediana	129.1000	113.6000	94.8000	104.4000	129.3000	78.2000
Varianza	23.5300	0.9100	102.6533	1.5233	61.9900	0.0400
Desviación Típica	4.8508	0.9539	10.1318	1.2342	7.8734	0.2000
Mínimo	128.9000	112.5000	79.2000	103.7000	122.5000	78.0000
Máximo	137.4000	114.4000	98.2000	106.1000	138.2000	78.4000

En relación a los datos de la tabla 12, de toma de glucosa a los 60 minutos, se evidencia que el grupo T3 presenta un valor de glucosa de 90.733 mg/dl, valor mínimo que ya se encuentra dentro de los valores normales de glucosa. El grupo T1 sigue siendo el que presenta los valores más altos de glucosa en relación a los grupos de estudio con un valor de 131.80 mg/dl.

Los valores en el caso del C+ se encontraron homogéneos y centralizados con una varianza de 1.52 y una desviación típica de 1.23, el grupo que presenta mayor dispersión en sus datos es el T3 ya que presenta una varianza de 102.653 y un desviación típica de 10.13, a pesar de esto la reproducibilidad de sus datos es muy aceptable y es el tratamiento que mejor efecto posee.

Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 60 minutos de los diferentes tratamientos.

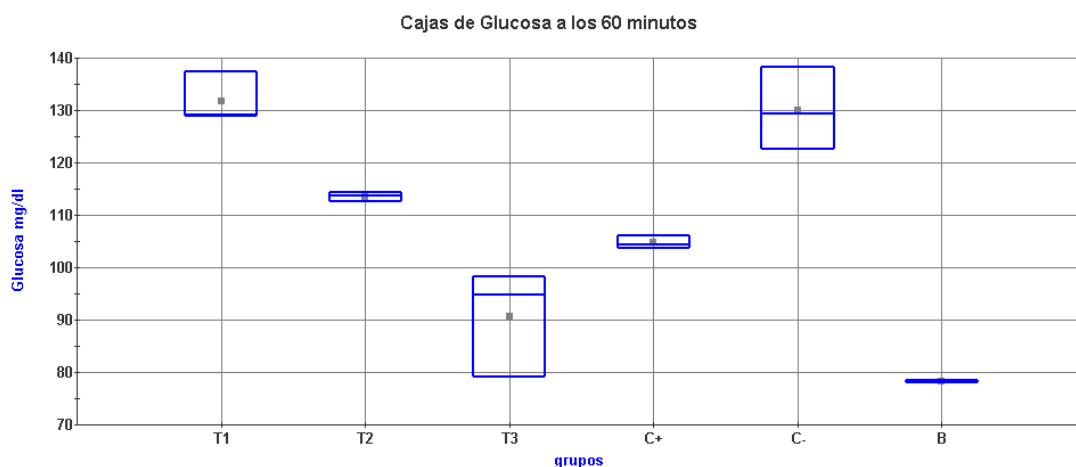


GRÁFICO No 4: Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 60 minutos de los diferentes tratamientos.

En el gráfico 4 se observa claramente que la dispersión de los datos es mínima, con lo cual se garantiza la efectividad del estudio.

El grupo T3 es el que presenta el valor mínimo de glucosa en relación a los grupos de estudio, incluso por debajo del C+, de igual manera el grupo T1 y C- no presentan variación esquemática en los valores de glucosa reportados.

Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 60 minutos, de los diferentes tratamientos.

TABLA No 13: Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 60 minutos, de los diferentes tratamientos.

Número de Casos: 18

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	6832.1494	5	1366.4299	43.0041	0.0003E-3
Dentro Grupos	381.2933	12	31.7744		
Total (corr.)	7213.4428	17			

En el test de anova se determinó un p-valor de 0.0003E-3 con lo cual rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa, estableciendo diferencias estadísticamente significativa, entre los grupos de estudios.

Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glucosa a los 60 minutos, de los diferentes tratamientos.

TABLA No14: Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glucosa a los 60 minutos, de los diferentes tratamientos.

Método: Tukey HSD al 95.00%

grupos	N	Media	Grupos Homogéneos
B	3	78.2000	X
T3	3	90.7333	XX
C+	3	104.7333	XX
T2	3	113.5000	X
C-	3	130.0000	X
T1	3	131.8000	X

Al observar la tabla 14 se evidencia claramente que el grupo T3 incide altamente sobre la disminución de glucosa a tal punto que alcanza los valores referenciales del blanco, de tal manera que estos dos forman un solo grupo homogéneo. Por lo que se sustenta que el grupo T3 genera un efecto hipoglicemiante mayor, comparado con el resto de tratamientos.

El grupo T1 y C- forman un solo grupo homogéneo que prácticamente no presenta actividad hipoglicemiante.

Gráfica de los niveles de glicemia a los 60 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el control negativo.

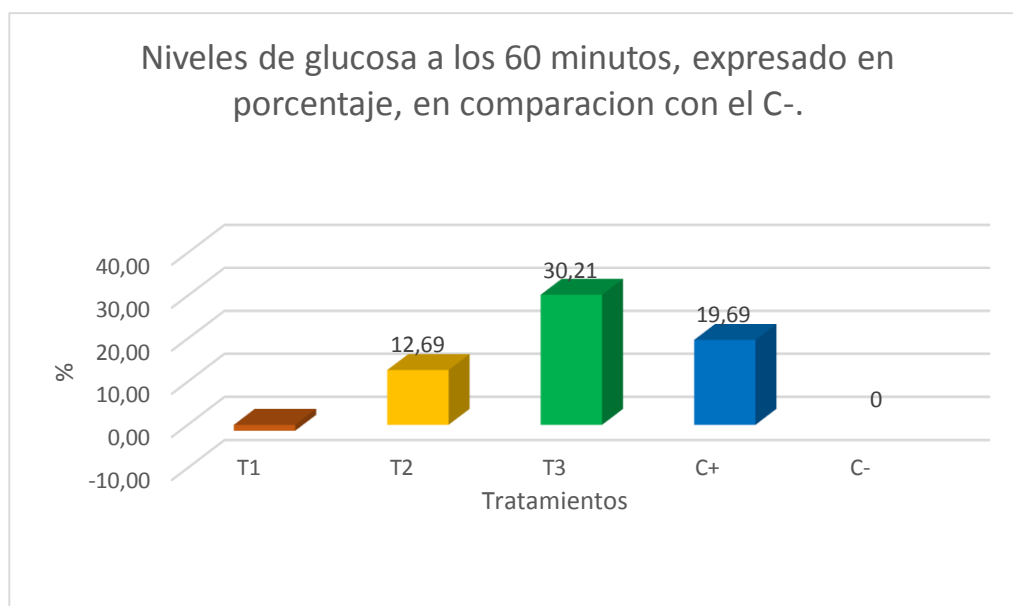


GRÁFICO No 5: Gráfica de los niveles de glicemia a los 60 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el C-.

En la gráfica 5 se observa claramente que el T3 presenta un 30.21% de disminución de glucosa, incluso mejor que el C+ que solo disminuye en un 19.69%. Por lo cual podemos aseverar que el T3 presenta actividad hipoglicemiante.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL SUBEXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Scoparia dulcis* L, PARA GLICEMIA A LOS 120 MINUTOS. LABORATORIO ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS Y CLÍNICOS. SEPTIEMBRE 2014.

TABLA No15: Análisis estadístico de la actividad hipoglicemiante del subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, para glicemia a los 120 minutos. Laboratorio análisis bacteriológicos y clínicos. Septiembre 2014.

Grupos	T1	T2	T3	C+	C-	B
N	3	3	3	3	3	3
Media	84.0333	86.3000	79.3667	82.6333	102.6000	90.6667
Mediana	87.2000	90.5000	80.3000	82.4000	101.3000	90.7000
Varianza	64.5233	63.6400	10.2633	48.3433	20.1900	0.0033
Desviación Típica	8.0326	7.9775	3.2036	6.9529	4.4933	0.0577
Mínimo	74.9000	77.1000	75.8000	75.8000	98.9000	90.6000
Máximo	90.0000	91.3000	82.0000	89.7000	107.6000	90.7000

En la tabla estadística se puede observar que prácticamente todos los valores de glucosa han alcanzado un estado de equilibrio entre 80 y 100 mg / dl reportando que el grupo C- presenta el valor más alto de glucosa, con 102.6 en tanto que el grupo T3 sigue siendo el más influyente en relación al a actividad hipoglicemiante reportando un valor de 79.366 mg/dl.

La homogeneidad y reproducibilidad de los datos es muy elevada dado que el valor más alto de varianza y desviación típica son las del T1 con 64.03 y 8.03 respectivamente lo cual no afecta en la efectividad del estudio.

Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 120 minutos, de los diferentes tratamientos.

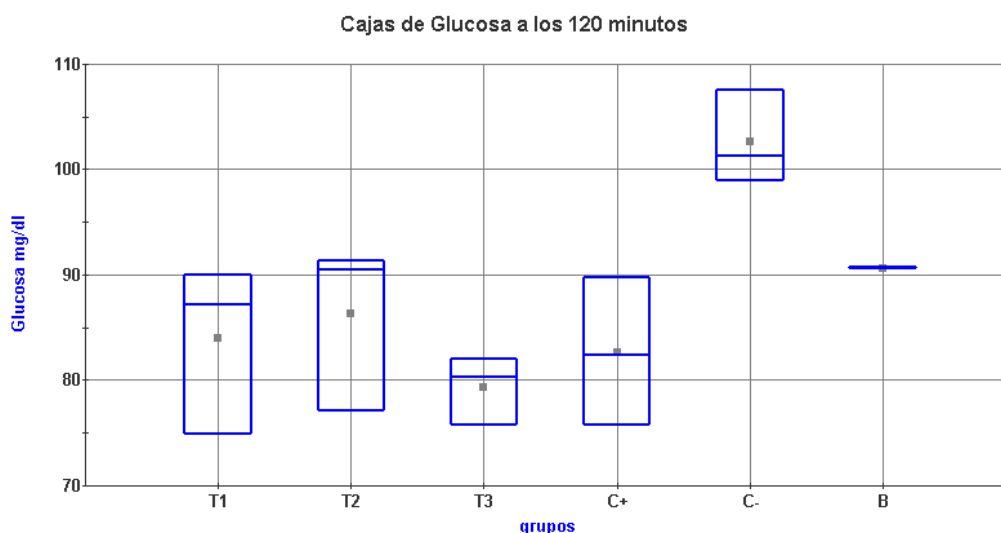


GRÁFICO No 6: Diagrama de medias y desviaciones de la glucosa a los 120 minutos, de los diferentes tratamientos

En el gráfico esquemático se puede observar que el C- es el que sigue persistiendo en los valores altos de glucosa, y por otra parte todos los grupos restantes han alcanzado un estado de equilibrio casi similar al del blando de referencia.

Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 120 minutos, de los diferentes tratamientos.

TABLA No 16: Anova de un factor datos agrupados para glicemia a los 60 minutos, de los diferentes tratamientos.

	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Entre Grupos	1023.8133	5	204.7627	5.9362	0.0055
Dentro Grupos	413.9267	12	34.4939		
Total (corr.)	1437.7400	17			

En el test de anova se determinó un p-valor de 0,0055 con lo cual rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa, estableciendo diferencias estadísticamente significativa, entre los grupos de estudios.

Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glucosa a los 120 minutos, de los diferentes tratamientos.

TABLA No 17: Análisis de Tukey HSD 95% de confianza para glucosa a los 120 minutos, de los diferentes tratamientos.

Método: Tukey HSD al 95.00%

grupos	N	Media	Grupos Homogéneos
T3	3	79.3667	X
C+	3	82.6333	X
T1	3	84.0333	X
T2	3	86.3000	X
B	3	90.6667	X X
C-	3	102.6000	X

En el test Tukey 95% se presenta que todos los grupos que intervienen en el estudio, forman un solo grupo homogéneo de actividad hipoglicemiante; a excepción del C-, que forman un solo grupo homogéneo de actividad hipoglicemiante y el único que demuestra valores por fuera de este grupo homogéneo es el C-.

Gráfica de los niveles de glicemia a los 120 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el control negativo.

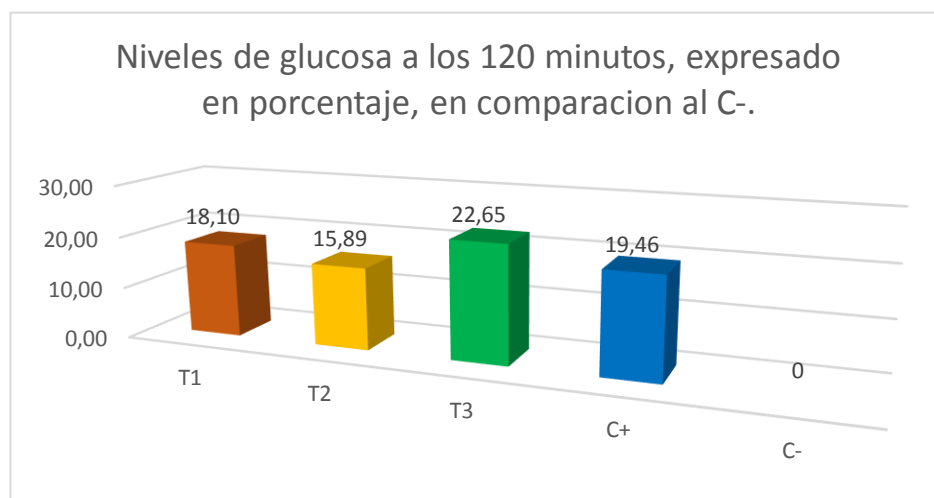


GRÁFICO No 7: Gráfica de los niveles de glicemia a los 120 minutos, en los diferentes tratamientos expresados en porcentaje, en comparación con el C-.

En el gráfico 7 se observó que tanto el T1, T2 y C+, presentan alrededor de un 17.8% de disminución de glucosa transcurrido los 120 minutos. Pese a que todos los grupos al término de este tiempo han disminuido la glucosa, el T3 sigue siendo el que mejor porcentaje de disminución presenta, con un 22.65%.

Gráfica de actividad hipoglicemiante del extracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L. Curva de tolerancia a la glucosa.

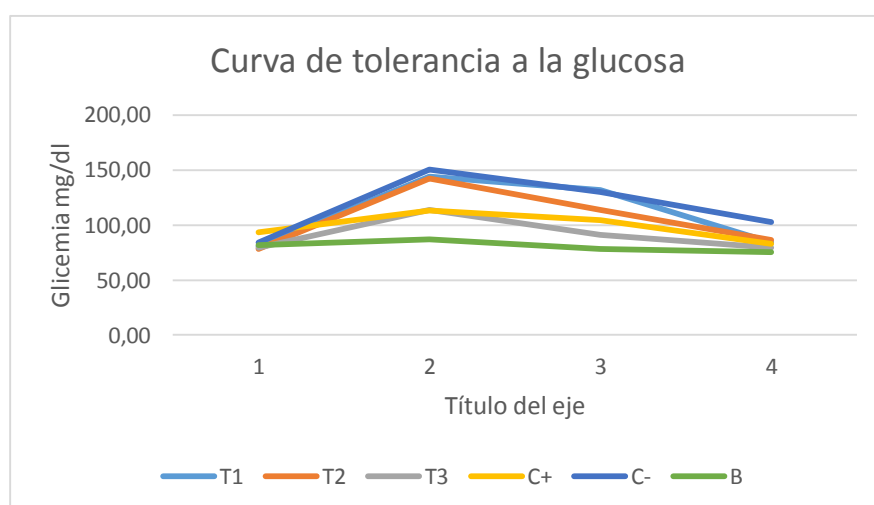


GRÁFICO No 8: Gráfica de actividad hipoglicemiante del subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L. Curva de tolerancia a la glucosa.

En el gráfico 8, se puede observar que el extracto etanólico de *Scoparia dulcis* L, si presenta actividad hipoglicemiente, pero a la dosis más alta, que es el tratamiento 3 (subextracto alcohólico al 80%), mostrando mayor eficacia frente al medicamento de referencia.

3.6 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS RATAS

Protocolo histopatológico de Ratas (*Rattus novegicus*) a los que se les administro subextracto etanólico de *Scoparia dulcis* L.

TABLA No 18: Estudio histopatológico de los principales órganos de Ratas

Muestra	Examen macroscópico		Examen microscópico
B (blanco)	Hígado:	Peso:11.4g	Presencia de lobulillos hepáticos de arquitectura normal, sinusoides de calibre y contenido normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.
		Ancho:5	
		Largo: 4.2	
		Diámetro: 0.9	
	Riñón:	Peso: 1.3 g	Glomérulos de distribución normal, integridad de la membrana epitelial; espacios de bowman adecuados. Túbulos de calibre y contenido normal.
		Ancho: 1.8	
		Largo: 1.2	
		Diámetro:0.7	
	Estómago:	Peso:2.1 g	Integridad de la mucosa gástrica; glándulas de distribución y calibre normal; contenido de la
		Ancho:1.3	
		Largo: 2.2	
		Diámetro:.6	

				membrana propia de la celulidad adecuada.
T2 (Tratamiento al 60%, de <i>Scoparia dulcis L</i>)	R ₁	Hígado:	Peso:12.9 g	Sinusoides de calibre y contenido normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal. Presencia de lobulillos hepáticos de arquitectura normal.
			Ancho:4.3	
			Largo: 4.5	
			Diámetro:0.7	
		Riñón:	Peso:1 g	Túbulos de calibre y contenido normal. Glomérulos de distribución normal, integridad de la membrana epitelial; espacios de bowman adecuados.
			Ancho1.1:	
			Largo: 1.7	
			Diámetro:0.5	
		Estómago:	Peso:2.6 g	Presenta glándulas de distribución y calibre normal; contenido de la membrana propia de la celulidad adecuada .Integridad de la mucosa gástrica.
			Ancho:1	
			Largo: 2.5	
			Diámetro:0.7	
	R ₂	Hígado:	Peso:13.9 g	Espacios porta adecuados con vasos de calibre normal. Lobulillos hepáticos de arquitectura normal, sinusoides de calibre y contenido normal.
			Ancho:5.7	
			Largo: 4.3	
			Diámetro:0.6	
		Riñón:	Peso:1.4 g	Presencia de glomérulos de distribución normal,
			Ancho:1.2	

T3 (Tratamiento al 80%, <i>Scoparia dulcis L</i>)	R₁		Largo: 2.1	integridad de la membrana epitelial; espacios de bowman adecuados. Túbulos de calibre y contenido normal.
			Diámetro:0.7	
		Estómago:	Peso:2.7 g	Integridad de la mucosa gástrica; glándulas de distribución y calibre normal; contenido de la membrana propia de la celulidad adecuada.
			Ancho:1.2	
			Largo: 2.6	
			Diámetro:0.7	
		Hígado:	Peso:11.8 g	Lobulillos hepáticos de arquitectura normal, sinusoides de calibre y contenido normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.
			Ancho:5.2	
			Largo: 3.7	
			Diámetro:0.9	
	R₁	Riñón:	Peso:1.1 g	Espacios de bowman adecuados. Glomérulos de distribución normal, integridad de la membrana epitelial; Túbulos de calibre y contenido normal.
			Ancho:0.8	
			Largo: 1.8	
			Diámetro:0.6	
		Estómago:	Peso:2.3 g	Integridad de la mucosa gástrica; contenido de la membrana propia de la celulidad adecuada glándulas de distribución y calibre normal.
			Ancho:1.2	
			Largo: 2.8	
			Diámetro:0.7	
	R₂	Hígado:	Peso:13.2 g	

			Ancho:4.4	Presencia de lobulillos hepáticos de arquitectura normal, sinusoides de calibre y contenido normal, espacios porta adecuados con vasos de calibre normal.
			Largo: 5	
			Diámetro:0.8	
		Riñón:	Peso:1 g	Túbulos de calibre y contenido normal. Glomérulos de distribución normal, integridad de la membrana epitelial; espacios de bowman adecuados.
			Ancho:0.9	
			Largo: 1.7	
			Diámetro:0.6	
		Estómago:	Peso:2 g	Contenido de la membrana propia de la celulidad adecuada Integridad de la mucosa gástrica; glándulas de distribución y calibre normal.
			Ancho:1.3	
			Largo: 2.8	
			Diámetro:0.6	

ELABORADO POR: NARANJO; 2014

Los datos obtenidos en la tabla 8, muestran que después de realizar el estudio de toxicidad aguda, durante 14 días con el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, no presentan lesiones los órganos examinados, por lo cual este tratamiento resulta ser seguro para el tratamiento de la diabetes.

CAPITULO IV

4 CONCLUSIONES

1. Mediante el tamizaje fitoquímico realizado a la planta de *Scoparia dulcis L* se determinó la presencia de: flavonoides, cumarinas, alcaloides, triterpenos, saponinas, taninos y azúcares reductores.
2. Al término de la cuantificación de flavonoides se encontró que en el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis L*, existe 1.14 % de componente flavónico (quercetina) de un total de 10 g de planta.
3. Se evaluó la actividad hipoglicemiante del subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis L*, a diferentes concentraciones, mediante hiperglicemia inducida por sobrecarga de glucosa. Al analizar los datos de las varianzas se observó que existe diferencia estadística significativa entre los grupos sometidos a tratamiento con el subextracto alcohólico frente al grupo control positivo.
4. Mediante este estudio se concluye que el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis L*, a la concentración más alta, presenta evidente reducción de los niveles de glucosa en sangre, incluso mejor que el medicamento de referencia.

5. Se evaluó la toxicidad aguda del subextracto alcohólico a concentraciones del 60 y 80%, administrado a las ratas vía oral durante 14 días en los cuales, mediante estudio histopatológico, no se evidencio ningún daño a los órganos examinados (riñón, hígado y estomago), por lo cual el fitotratamiento resulta ser seguro.
6. *Scoparia dulcis L*, cumplió con todos los parámetros de calidad y mediante tamizaje fitoquímico reveló la presencia de flavonoides que posteriormente se cuantificó para obtener el componente flavónico (quercetina) y finalmente el subextracto alcohólico al 80%, mostró efecto hipoglicemiante ya que disminuyó los niveles de glucosa de ratas sometidas a hiperglicemia. Además resultó ser seguro y eficaz ya que no revela daño toxicológico en los órganos involucrados en la actividad farmacológica.

5 RECOMENDACIONES

1. Realizar mayor número de investigaciones sobre otro tipo de actividad farmacológica de *Scoparia dulcis* L, ya que según su uso ancestral se le atribuyen varias propiedades, para de esta manera contribuir en el desarrollo de nuevos fitofármacos.
2. Incorporar el subextracto alcohólico de *Scoparia dulcis* L, en una forma farmacéutica, con la finalidad de que exista mayores alternativas de tratamiento para los pacientes diabéticos, mejorando así su calidad de vida.

6 BIBLIOGRAFÍA

1. **ÁLVAREZ, J, MEDELLÍN, R.** 2005. *Rattus norvegicus*. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 1. No. 1 México. pp.1
2. **ANON.** 1997. La Biodiversidad en el Ecuador. Boletín informativo Diálogos con la naturaleza. Proyecto GEF/Banco Mundial - INEFAN. Año 2. No. 7. Febrero - Abril 1997. Quito.
3. **BAYÓN, A.** 2009. “Las virtudes de las plantas: fitoterapia”. A Mayor Ciencia. Vol. 3. Valladolid (España). pp. 12-13.
4. **BEH, J. y otros** 2013. Journal of Ethnopharmacology. SDF7, a group of *Scoparia dulcis* Linn. derived flavonoid compounds, stimulates glucose uptake and regulates adipocytokines in 3T3-F442a adipocytes. Vol. 150 pp. 339–352.
5. **BONNER, S.** 1988. Induced rat models of non-insulin dependent diabetes. In: Shafrir E, Renold AE, eds. Lessons from animal diabetes 2. Frontier in diabetes research. London: Libbey, pp. 295-320.
6. **BORNÁS, S.** 2003. Efecto hipoglucemiante y antioxidante del extracto acuoso de *Psidium guayaba* (guayaba) en ratas diabéticas. Facultad de Ciencias. Universidad Jorge Basadre Grohman. Tacna (Perú). pp. 6
7. **BRUNETON, J.** 2001. Plantas Medicinales. Fitoquímica y Farmacognosia. Editorial Acribia. Zaragoza.
8. **CHAVES, R y otros** 2001. Hipoglucemiantes Orales: Propiedades Farmacológicas y Usos terapéuticos. Revista de Posgrado de la Cátedra VI Medicina. Vol. 106. pp. 8-12.

9. **CLIFFORD., J, FLATT., R.** 1988. Animals syndromes of non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. En: Pickup C, Williams G, eds. Textbook of Diabetes Mellitus. 2nd ed. Blackwell Science. pp 1-23.25.
10. **CRUZ, A** 2002. Diabetes y su cura natural. Distrito federal. México. Selector. Vol. 1. pp. 10-13.
11. **COOKE, D., PLOTNICK, L** 2008. Type 1 Diabetes Mellitus in Pediatrics. Vol. 29. pp. 374-385.
12. **CUBA. MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. (MINSAP).** 1992 (Normas Ramales de drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309, 311 y 312.
13. **EFRAT, S y otros.** Diabetes induced in male transgenic mice by expression of human hras oncoprotein in pancreatic β cells. Mol Cell Biol. Vol. 10. pp. 1779-83.
14. **ESPAÑA., AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS.** Real farmacopea española. Madrid (España). 2002. pp 3337-3934.
15. **FERNÁNDEZ, I.** 2001. Actualización en antidiabéticos orales. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. Vol. 25 N^o 2. Ecuador. pp. 36-37.
16. **FERNÁNDEZ, E y otros.** 1985. Determinaciones colorimétricas específicas de Compuestos: determinación de glucosa (método Glucosa - oxidasa). Determinación de nitrito (método de la sulfanilamida: n-neda). pp. 1-2.
17. **FID. 2013.** ATLAS de la DIABETES de la FID. 6ta ed. pp. 11-20.
http://www.idf.org/sites/default/files/SP_6E_Atlas_Full.pdf
20140825

18. **GODAY, A y otros.** 2005. Magnitud del problema: epidemiología del síndrome metabólico y de la diabetes tipo 2 en España. Revista oficial de la sociedad de la sociedad española de dialectología. Vol. 21. N^o. 2 Madrid (España) pp. 63-64.
19. **HAYASHI, H.** 1996. Phytochemistry. Vol. 42. N^o. 3. pp.701-704
20. **HERNÁNDEZ, D.** 2013. Antecedentes del uso tradicional de plantas medicinales. Fitoterapia en Uruguay. Vol. 1. N^o 1. pp. 112-115.
21. **HÖNES, J.** 2008. The Technology Behind Glucose Meters: Test Strips. Diabetes Technol Ther. Vol. 1. pp. 10-26.
22. **HUGUÉS, B.** 2002. Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. Revista Cubana Endocrinol. Vol. 13. N^o. 2. Habana (Cuba). pp. 163-72.
23. **ISHII, K. Y COL.** 1996. J. Chromatog. B. Vol. 683. pp. 225-229.
24. **IZQUIERDO, F.** 2012. Detección de interferencias y otros errores en la medición de la glucemia en glucómetros portátiles. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular.
25. **LUZMAR, A y otros.** 2006. Conocimiento sobre autocuidado presente en los pacientes con diabetes tipo 1 que asisten a la consulta de medicina interna del hospital “Dr. Domingo Luciani. Tesis de Licenciatura en Enfermería. Escuela de Enfermería. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas (Venezuela. pp.20-21.
26. **MENDOZA, A., SERPA, C** 2009. Medicamentos: hablando de calidad. Asociación Brasileña Interdisciplinaria de SIDA (ABIA). Vol. 8. (Brasil). pp. 32-33.

27. **MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA** 2012. Protocolos Clínicos y Terapéuticos para la Atención de las Enfermedades Crónicas no Trasmisibles (diabetes 1, diabetes 2, dislipidemias, hipertensión arterial). Vol. 1. Quito (Ecuador). pp. 20-21
28. **MIRANDA, M.** 2000. Farmacognosia y Productos naturales. (Habana) Cuba. se. pp. 40-60.
29. **MOSCOSO, L.** 2014. Análisis de la glucemia y parámetros relacionados. <http://www4.ujaen.es/~esiles/TEMA%202.pdf>. 20140514
30. **MURTI, K Y OTROS.** 2012. Pharmacological Properties of *Scoparia Dulcis*: A Review. *Pharmacologia*. Vol. 3. pp. 344-347.
31. **NORIEGA, M** 2009. Incidencia de Diabetes Mellitus Tipo II en pacientes mayores de 40 años del Hospital Provincial del Puyo. Tesis de grado. Escuela de Medicina. Facultad de Salud Pública. Puyo (Ecuador). pp. 31-32.
32. **OMS 1991.** Pautas para la evaluación de Medicamentos Herbarios. Programa de Medicina Tradiconal. Organización Mundial de la Salud. Ginebra.
33. **PAESANI, E.** 2012. Servicio de diabetología. Hospital de Córdoba. Hemoglobina glicosilada (hba1c). Diagnóstico y control del paciente con diabetes. pp. 1-2.
34. **PEREIRA, S y otros.** 2009. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la *Trichilia hirta L.* *Revista Química Viva*. Vol. 3. pp. 1.
35. **PASCOE, W y otros.** 1992. Insulin action and determimats of glycaemia in a rat model of type II (non-insulin dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. pp. 208-15.

36. **PAZMIÑO, C.** 2011. Determination de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcoholico de *Justicia chlorostachya Leonard* (Insulina). En ratones con hiperglicemia inducida. Tesis (Bioquim. Farm.) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba (Ecuador).
37. **RATNASOORIYA; W y otros.** 2005. Antioxidant activity of water extract of *Scoparia dulcis*. *Fitoterapia*, Vol. 76. pp. 220-222.
38. **SÁNCHEZ, G** 2007. Historia de la Diabetes. *Gaceta Médica Boliviana*. Vol. 30. N^o. 2 La Paz (Bolivia). pp. 74-78
39. **SANOFI ECUADOR** 2013. Diabetes.
<http://www.sanofi.com.ec/l/ec/sp/layout.jsp?scat=EE0EEA37-6816-4C8F-9541-DDBA61BC537B>
20140415
40. **SMITH, L** 1988. Fisiopatología. Principios Biológicos de la Enfermedad. Editorial Médica Panamericana. pp. 1236.
41. **UEMA y otros.** 2003. Manual para profesionales. Definiciones.
<http://www.fcq.unc.edu.ar/cime/Manual%20para%20profesionales4-Definiciones.pdf>
20140315
42. **VALLEJO, A.** 1998. Conservación ¿Gasto o inversión? ECUADOR, terra incógnita. *Revista Ecológica*. Vol. 1. N^o 1 Quito (Ecuador). pp 4-8.
43. **VEGA, M.** 2001. Etnobotánica de la Amazonía Peruana. Ecuador (Quito). Abya- Yala. pp. 118.
44. **VAREA, A.** 1997. Biodiversidad, Bioprospección y Bioseguridad. ILDIS. Proyecto FTTP-FAO, Ediciones Abya. Yala. Quito (Ecuador). pp 2.

45. **VIZCAÑO, J.** 2004. Evaluación del tratamiento combinado de glibenclamida acarbosa comparada con glibenclamida y metformina en el control glucémico del paciente con diabetes mellitus tipo 2. Tesis de Maestría en Ciencias Médicas. Facultad de Medicina. Universidad de Colima. Colima (Colombia). pp. 18.

7 ANEXOS

ANEXO No 1: OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS



FOTOGRAFÍA No 3: Planta de *Scoparia dulcis* L.



FOTOGRAFÍA No 4: *Scoparia dulcis* L. molida y pesada



FOTOGRAFÍA No 5: Obtención de los subextractos de *Scoparia dulcis* L.

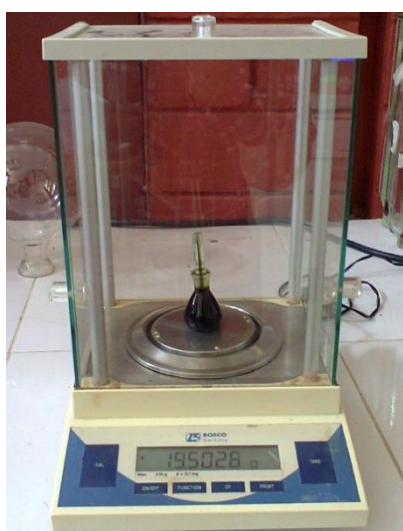


FOTOGRAFÍA No 6: Subextractos de *Scoparia dulcis* L

ANEXO No 2: DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS



FOTOGRAFÍA No 7: Determinación de pH e Índice de refracción del subextracto alcohólico.



FOTOGRAFÍA No 8: Determinación de la densidad relativa del subextracto alcohólico.

ANEXO No 3: DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y CENIZAS.



FOTOGRAFÍA No 9: Planta de *Scoparia dulcis* L., molida y pesada para determinar humedad y cenizas



FOTOGRAFÍA 10: Determinación de humedad y cenizas.

ANEXO No 4: CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES



FOTOGRAFÍA No 10: Lectura de los subextractos en el espectrofotómetro

ANEXO No 5: PREPARACION DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS.



FOTOGRAFÍA No 11: Glibenclamida



FOTOGRAFÍA No 12: Glucosa



FOTOGRAFÍA No 13: Tratamientos de estudio

ANEXO No 6: EXTRACCIÓN DE SANGRE.



FOTOGRAFÍA No 14: Obtención de sangre en capilares.

ANEXO No 6: ADMINISTRACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS



FOTOGRAFÍA No 15: Administración de los tratamientos.

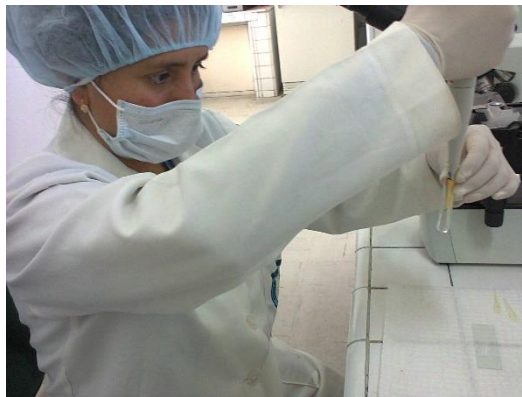
ANEXO No 7: DETERMINACIÓN DE GLUCOSA.



FOTOGRAFÍA No 16: Centrifugado de las muestras de sangre.



FOTOGRAFÍA No 17: Obtención de los sueros



FOTOGRAFÍA No 18: Pipeteo de las diferentes muestras.



FOTOGRAFÍA No 19: Muestras en baño maría.



FOTOGRAFÍA No 20: Muestras listas para la determinación de glucosa.

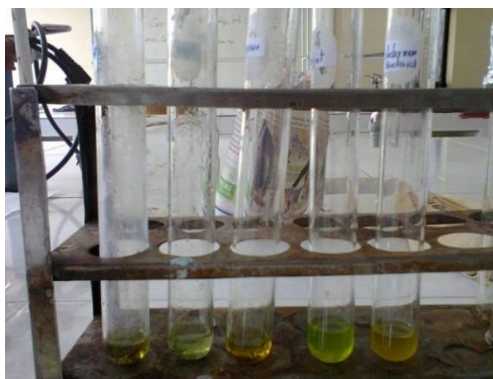


FOTOGRAFÍA No 21: Lectura en el espectrofotómetro de las muestras.

ANEXO No 8: TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS DIFERENTES SUBEXTRACTOS.



FOTOGRAFÍA No 22: Tamizaje del extracto Hexánico.



FOTOGRAFÍA No 23: Tamizaje del subextracto etéreo.



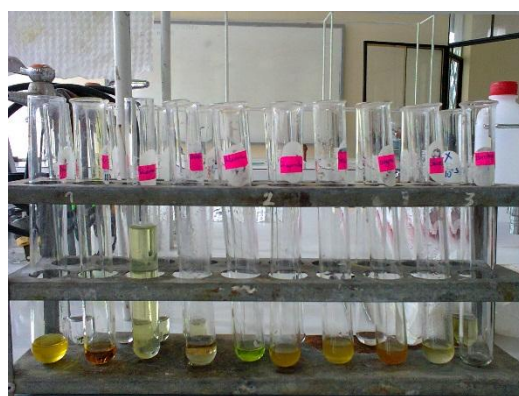
FOTOGRAFÍA No 24: Tamizaje del subextracto de acetato de etilo.



FOTOGRAFÍA No 25: Tamizaje del subextracto C18.



FOTOGRAFÍA No 26: Tamizaje del subextracto € 14.



FOTOGRAFÍA No 27: Tamizaje del subextracto
alcohólico.



FOTOGRAFÍA No 28: Tamizaje del subextracto
acuoso

ANEXO No 9: DISECCIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.



FOTOGRAFÍA No 29: Disección de las ratas.

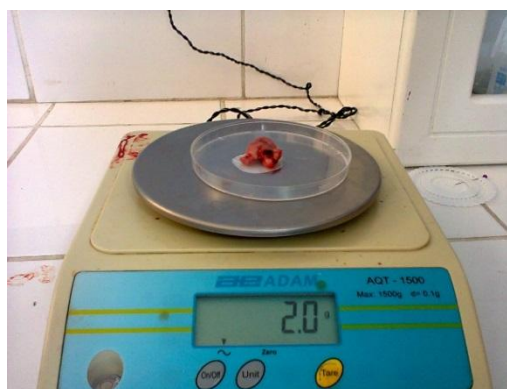
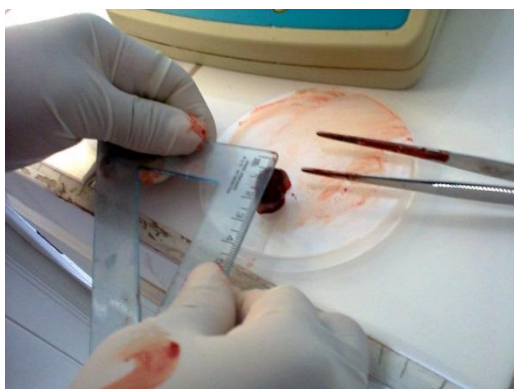


FOTOGRAFÍA No 30: Extracción de los principales órganos.

ANEXO No 10: ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO



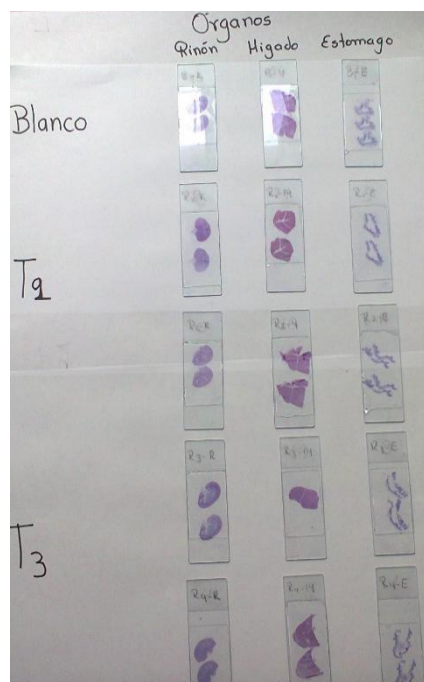
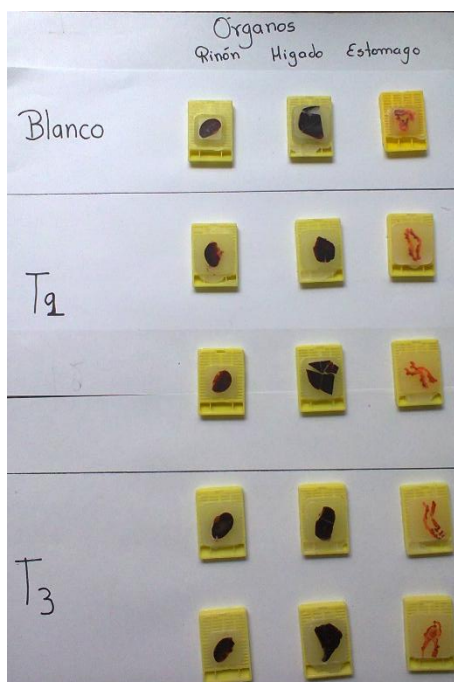
FOTOGRAFÍA No 31: Principales órganos extraídos de los animales de experimentación



FOTOGRAFÍA No 32: Medición del diámetro, peso y longitud de los diferentes órganos extraídos



FOTOGRAFÍA No 33: Preparación de los órganos para el examen microscópico



FOTOGRAFÍA No 34: Órganos fijados en parafina y en tinción Gram para examen microscópico.